



XXXIX.
SILICOSE
31.

XLV.
UMBELLATE
50.

VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

FACULTAD DE BIOLOGÍA
DPTO. DE BOTÁNICA Y FISIOLÓGIA VEGETAL

XLIX. +
COMPOSITE
120

XLVI.
HEDERACE
7.

XLVII.
STELLATE
25.

Estudios Filogenéticos y Taxonómicos en los
géneros *Inula* L. y *Filago* L. (Asteraceae)

XXXVII.
COLUMNIFERA
4.

XXVI.
MULTISILIQUE
24.

XLII.
VERTICILLATE
39.

XXI.
PUTERINE
2.

XXII.
RIBROADE
6.

XXIII.
CORYDALES
10.

XXXVIII.
TRICOCE
35.

XL.
PERSONATE
65.

XLIII.
ASPERIFOLLE
21.

XXVIII.
LURIDE
19.

XXIX.
CAMPANACE
15.

XXX.
CONTORTE
25.

XXXIV.
CUCURBITACE
12.

XXXI.
POLICE
10.

LIII.
SCABRIDE
15.

XXXV.
SENTICOSE
12.

TESIS DOCTORAL
David Gutiérrez Larruscain
Salamanca, 2017

FACULTAD DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y FISIOLOGÍA VEGETAL

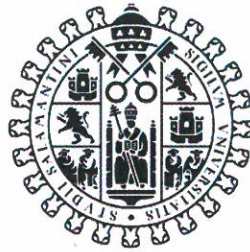


VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

Estudios Filogenéticos y Taxonómicos en los géneros
Inula L. y *Filago* L. (Asteraceae)

TESIS DOCTORAL
David Gutiérrez Larruscain
Salamanca, 2017

FACULTAD DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA Y FISIOLÓGIA VEGETAL



**VNiVERSIDAD
D SALAMANCA**

**Estudios Filogenéticos y Taxonómicos en los géneros
Inula L. y *Filago* L. (Asteraceae)**

Memoria que para optar al grado de
Doctor en Biología
por la Universidad de Salamanca, presenta el licenciado
David Gutiérrez Larruscain

VºBº del director

A blue ink signature in cursive script.

Enrique Rico Hernández

VºBº de la directora

A blue ink signature in cursive script.

Mª Montserrat Martínez Ortega

VºBº del director

A blue ink signature in cursive script.

Santiago Andrés Sánchez

Salamanca, 2017

D. Enrique RICO HERNÁNDEZ, Catedrático de Universidad del Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca, Dña. M^a Montserrat MARTÍNEZ ORTEGA, profesora Titular del Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca, y D. Santiago ANDRÉS SÁNCHEZ profesor Ayudante doctor del departamento de Didáctica de las Matemáticas y de las Ciencias Experimentales de la Universidad de Salamanca

INFORMAN:

En calidad de directores de la Memoria de Tesis Doctoral cuyo título es: “**Estudios Filogenéticos y Taxonómicos en los géneros *Inula* L. y *Filago* L. (Asteraceae)**”, realizada por el Licenciado en Biología D. David Gutiérrez Larruscain, consideran finalizado el trabajo y autorizan la presentación, a fin de que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente.

Y para que conste, firmamos el presente informe en Salamanca, a 17 de Noviembre de 2017.



Enrique Rico Hernández



M^a Montserrat Martínez Ortega



Santiago Andrés Sánchez

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar gracias a ti lector, por abrir la tapa y dejar descansar –o trabajar– tus ojos sobre estas palabras. Las personas que voy a nombrar a continuación han contribuido a la realización de esta tesis ayudándome de distintas maneras. Algunas han ayudado mucho, otras muchísimo, y algunas han ayudado tanto, tanto, tanto, que en ciertos momentos me ha parecido inexplicable el nivel de dedicación que me han otorgado.

Podría dar gracias a mis directores de tesis por su supervisión, por el espíritu de trabajo que me han inculcado, o tal vez por la paciencia que han demostrado al enfrentarse a mis manuscritos y bla, bla, bla... Mis directores de tesis, en mi entendimiento, se acercan a ser sabios. Aunque es algo inalcanzable, yo les he visto en ocasiones actuar como tal, pues saben enfrentarse a la vida como a mí me gustaría ser capaz de hacerlo algún día en el futuro.

Los del día a día son los que me sacan de la plúmbea rutina. Son los que tengo alrededor. Gracias sin duda a Santiago Andrés (¿Creo haber hablado de él antes?) por ser un auténtico mozo fanfarrón, a Sara Barrios por su escandalosa risa, a Daniel Pinto porque sabe que algún día perderá a mi favor en una lucha leonesa, a Blanca Rojas porque es una manoli de la vida, a Victor Lucía porque tiene un pelazo, a Noemí López porque me permite tocarle la cabeza, a Javier Bobo porque va a montar una corporación dermoestética, y a Nélida Padilla porque entre otras cosas, me da molletes.

Gracias a Juan Carlos y a Javi porque hacen que todo vaya rodado.

Gracias a Salvatore Tomasello, porque las hortalizas cultivadas en la azotea de la facultad saben muy bien. En ese tiempo fue cuando Christoph me acogió en su casa. Luego conocí a gente muy especial, lo que me permitió discutir de cosas tremendamente importantes, como del tiempo, o de como imitar el acento bávaro. Paula, Alessio, Mathias, Thomas, Luca, Nicolla. Al final no hablábamos mucho de ciencia, pero fuimos campeones de mus y jugábamos fatal al vóley. También estaba Alicia Agudo, que aparecía, se iba, y finalmente volvía, cosa que yo imploraba al cielo.

En relación con la vida académica y aunque de manera espaciada, algunas personas siguieron después de la carrera. Aquí entra la reina de los lagartos, la persona a la que dedico un guiñó, o el que quiere matricular una galera en el puerto. Otros se fueron a mirar pájaros al extranjero o consiguieron finalmente, encontrarse a sí mismos. Algunos están muy lejos: Burgos, Asturias, Sanabria, Madrid, o incluso allende el mar. Afortunadamente

quedan algunos que están cerca, y siempre me puedo ir de cañas con ellos y contarles que tal estoy. Eso es fantástico.

También hay otras personas que aunque no estén claramente a favor de dejar chillar al mono que hay colgado de la lámpara del salón, si están dispuestos a darse un baño a deshoras, o simplemente, a escucharme cuando hablo y soportar la angustia que me causa la falta de movimiento.

Sí algún amigo de Zamora abre estas páginas supongo que será Alberto –porque es un cotilla– o tal vez Iván. A los demás también los quiero.

Mi familia me ha apoyado siempre en todo lo que he querido hacer. Espero poder ayudarles en consonancia y estar a la altura de los que han dado tanto por mí. Mis padres siempre han confiado en mí, mi tía siempre me ha hablado de ciencia, mi prima es una mona y mi cuñado es una prima.

Y el huequito que queda de gracias –que no es pequeño– lo has llenado tú, pero eso ya lo sabes.

*Lógicamente, a mis
Padres,
pues ellos decidieron engendrarme.*

“Systematics (is) the stone of Sisyphus”

V.H. Heywood

“Hay que imaginar a Sísifo feliz”

Albert Camus

*FANDO- ¿Luchar en la vida? Qué cosas dices. Casi parece una broma.
Es que, Lis, no sé por qué tengo que luchar, y quizá, si supiera por qué no
tendría fuerzas; e incluso, si tuviera fuerzas, no sé si ellas me servirían
para vencer*

LIS- Fando, haz un esfuerzo

FANDO- ¿Hacer un esfuerzo?

Quizás eso sea más sencillo

F. Arrabal

INDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN

1.1.	INTRODUCCIÓN GENERAL	4
1.2.	ESTRUCTURACIÓN DE LA MEMORIA DE TESIS DOCTORAL.....	8
1.3.	ANTECEDENTES HISTORICOS	13
1.3.1.	Sobre los géneros <i>Inula</i> y <i>Filago</i> ; breve encuadre taxonómico	13
1.3.2.	Sobre la circunscripción del género <i>Inula</i> L.: breves notas taxonómicas	15
1.3.3.	Sobre la circunscripción del género <i>Filago</i> L.: breves notas taxonómicas	19
1.4.	OBJETIVOS GENERALES.....	22
1.5.	BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	23

2. CAPÍTULO II: Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*.

2.1.	INTRODUCTION.....	33
2.2.	MATERIAL AND METHODS.....	36
	DNA extraction and amplification	37
	Alignment	38
	Analysis of secondary structure.....	38
	Test of recombination	38
	Phylogenetic reconstruction.....	38
	Microphotography with scanning electron microscopy (SEM)	40
2.3.	RESULTS.....	40
	Sequence characteristics.....	40
	Major clades in the ITS analysis	41
	Cypsela examination using SEM.....	46
2.4.	DISCUSSION.....	48
	Circumscription of <i>Inula</i>	48
	A new circumscription of <i>Pentanema</i> Cass.	49
	Species monophyly and main lineages within <i>Pentanema</i>	52
	Phylogenetic analysis and incongruence.....	54
2.5.	ACKNOWLEDGEMENTS	56
2.6.	LITERATURE CITED	56
2.7.	APPENDIX	60

3. CAPÍTULO III: Ahondado en el conocimiento taxonómico de las especies representantes del *Pentanema conyzae* clade en el Mediterráneo occidental mediante análisis de huella genética

3.1.	INTRODUCCIÓN.....	69
3.2.	MATERIALES Y METODOS.....	74
	Material Vegetal, estrategia de muestreo y elección de grupo externo.....	74
	Extracción de ADN y obtención de perfiles AFLP	75
3.3.	RESULTADOS.....	77
	Análisis de estructura genética.....	77
	Análisis de la estructura genética poblacional.....	79
3.4.	DISCUSIÓN	81

	Límites entre las especies que integran el “ <i>Pentanema conyzae</i> clade” en el Mediterráneo occidental, consideraciones sobre la historia evolutiva del grupo.....	81
	Conclusiones taxonómicas	84
3.5.	AGRADECIMIENTOS.....	86
3.6.	BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	87
3.7.	APÉNDICE	91

4. CAPÍTULO IV: Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae)

4.1.	INTRODUCTION	103
4.2.	MATERIAL AND METHODS.....	104
	Plant material, sampling strategy and outgroup selection	104
	DNA isolation and AFLP fingerprinting.....	104
	AFLP data analysis	105
4.3.	RESULTS	105
	Morphology.....	105
	AFLP data analysis	106
4.4.	DISCUSIÓN	106
	Phylogenetic relationships within the <i>F. desertorum</i> clade	108
	High genetic polymorphism in <i>F. desertorum</i> s.s.	109
	Taxonomic treatment.....	109
4.5.	ACKNOWLEDGEMENTS	113
4.6.	REFERENCES	113
4.7.	APPENDIX	115

5. CAPÍTULO V: *Filago longilanata* and *F. prolifera* (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the *Filago desertorum* clade rediscovered

5.1.	INTRODUCTION	123
5.2.	MATERIAL AND METHODS.....	125
	Sampling, DNA extraction, PCR amplification, and sequencing.....	126
	Phylogenetic reconstruction.....	126
5.3.	RESULTS	127
	Phylogenetic analysis.....	127
	Revision of herbarium material	129
5.4.	DISCUSIÓN	129
	The “ <i>Filago desertorum</i> clade” enlarged to include <i>F. longilanata</i> and <i>F. prolifera</i>	129
	Detailed description and nomenclatural treatment of <i>F. longilanata</i> and <i>F. prolifera</i>	131
	Identification key for the species of “ <i>Filago desertorum</i> clade”	137
5.5.	ACKNOWLEDGEMENTS	137
5.6.	LITERATURE CITED.....	137
5.7.	APPENDIX	140

6. CAPÍTULO VI: SSR Markers for *Filago* subgen. *Filago* (Gnaphalieae: Asteraceae) and cross-amplification in three other subgenera

6.1.	INTRODUCTION	147
6.2.	METHODS AND RESULTS.....	148
	Microsatellite development	148

	Population genetic parameters in three species of <i>Filago</i>	149
	Cross-amplification in other species of <i>Filago</i> in the FLAG clade	150
6.3.	CONCLUSIONS.....	151
6.4.	ACKNOWLEDGEMENTS.....	151
6.5.	LITERATURE CITED.....	152
6.6.	APPENDIX	154

7. CAPÍTULO VII: Conclusiones

7.1.	CONCLUSIONES.....	161
7.2.	CONCLUSIONS.....	164

APÉNDICES

	INULA L., SÍNTESIS GENÉRICA DE FLORA IBERICA	169
	NUEVAS APORTACIONES PARA EL GÉNERO FILAGO L. EN LAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS DE CASTILLA Y LEÓN Y ARAGÓN.....	191
	FILAGO DESERTORUM POMEL (ASTERACEAE, GNAPHALIEAE) EN LA PENINSULA IBERICA	195
	COMUNICACIONES	201

RESUMEN

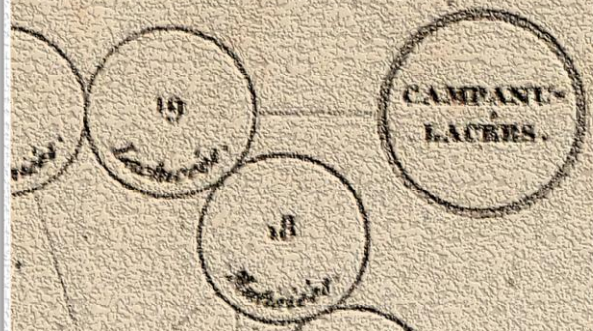
I.	Introducción.....	209
II.	Phylogeny of the <i>Inula</i> group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of <i>Pentanema</i>	213
III.	Ahondado en el conocimiento taxonómico de las especies representantes del <i>Pentanema conyzae</i> clade en el Mediterráneo occidental mediante análisis de huella genética.....	217
IV.	Overlooked singularity and tiny plants: the <i>Filago desertorum</i> clade (Gnaphalieae, Asteraceae)	220
V.	<i>Filago longilanata</i> and <i>F. prolifera</i> (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the <i>Filago desertorum</i> clade rediscovered.....	224
VI.	SSR Markers for <i>Filago</i> subgen. <i>Filago</i> (Gnaphalieae: Asteraceae) and cross-amplification in three other subgenera	227
VII.	Conclusiones.....	230
	Bibliografía citada	233

SUMMARY

I.	Introduction	241
II.	Phylogeny of the <i>Inula</i> group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of <i>Pentanema</i>	244
III.	Ahondado en el conocimiento taxonómico de las especies representantes del <i>Pentanema conyzae</i> clade en el Mediterráneo occidental mediante análisis de huella genética.....	248
IV.	Overlooked singularity and tiny plants: the <i>Filago desertorum</i> clade (Gnaphalieae, Asteraceae)	251
V.	<i>Filago longilanata</i> and <i>F. prolifera</i> (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the <i>Filago desertorum</i> clade rediscovered.....	255
VI.	SSR Markers for <i>Filago</i> subgen. <i>Filago</i> (Gnaphalieae: Asteraceae) and cross-amplification in three other subgenera	258
VII.	Conclusions	261
	References.....	263

TANIQUE.

Synanthérées.



CAPÍTULO I

Introducción



1.1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Una de las líneas de investigación desarrollada por el GIR (Grupo de Investigación Reconocido) BIOCONS (Biodiversidad, Sistemática y Conservación de Plantas Vasculares y Hongos) con sede en el Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca, es la caracterización de la diversidad florística existente en la Península Ibérica e Islas Baleares a través de una participación continuada en el proyecto nacional *Flora iberica*. Esta línea de trabajo ha permitido el desarrollo de dos tesis doctorales (Andrés-Sánchez, 2012; Santos-Vicente, 2013) que han precedido y motivado los trabajos incluidos en esta memoria doctoral. Ambas tesis se caracterizan por ser estudios biosistemáticos que engloban taxones pertenecientes a *Inula* L., *Filago* L. y géneros afines, y fueron redactadas como parte del trabajo correspondiente a las síntesis genéricas de las tribus Inuleae Cass. y Gnaphalieae (Cass.) Lecoq & Juill. pertenecientes a la familia Asteraceae Bercht. & J. Presl (=Compositae Giseke) y que están en prensa para ser publicadas en 2018 en el volumen XVI-3 de la obra *Flora iberica* [Castroviejo & al. (eds.)(1986-)]. El grado de conocimiento adquirido por los compañeros del equipo de investigación en los géneros *Inula* y *Filago* –dos de los géneros más complejos dentro de sus respectivas tribus, al menos entre los representados en el hemisferio norte– ha provocado, como es natural en ciencia, una gran cantidad de nuevos interrogantes por resolver.

Los correspondientes tratamientos taxonómicos incluidos en ambas tesis han ido precedidos de un amplio trabajo de revisión de material de herbario, tanto ibérico como extraibérico, así como de exhaustivas campañas de recolección de material que han permitido acumular una cantidad de conocimientos y datos que proporcionan una base sólida para continuar la investigación en este grupo de plantas. Estos trabajos previos representan el punto de partida sobre el que se han desarrollado los diferentes estudios que forman esta memoria doctoral.

El género *Inula* (Lám. I) en su circunscripción tradicional (Anderberg, 2009), abarca cerca de 100 especies distribuidas por los continentes del Viejo Mundo y algunas naturalizadas en América. La especie tipo designada para el género es *I. helenium* L. (Hitchcock & Green, 1929). Las especies pertenecientes a este género son en su gran mayoría hierbas perennes, o excepcionalmente plantas de porte arbustivo con una preferencia de hábitat bastante variada; algunas especies crecen en herbazales húmedos y bordes de cursos de agua, mientras que otras prosperan en el matorral de sustitución, incluso algunas especies medran en ambientes de alta montaña. Los capítulos,



generalmente radiados y que llevan llamativas flores amarillas, se caracterizan por poseer varias filas imbricadas de brácteas externas, carecer de páleas en el receptáculo; y los aquenios presentan un vilano simple con pelos escábridos. Desde un punto de vista menos taxonómico, algunas plantas pertenecientes al género *Inula* son utilizadas como ornamentales, otros aprovechamientos son los derivados del uso de la Inulina, un compuesto que se encuentra en varios géneros de compuestas y fue aislado por primera vez en el rizoma de *Inula royleana* DC. En la actualidad es aceptado que la circunscripción del género *Inula* es parafilética en su sentido tradicional (Anderberg, 1991b; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009; Santos-Vicente, 2013) sobre la base de diferentes caracteres morfológicos, cariológicos y moleculares. Por otro lado, aún no ha sido publicado ningún estudio pormenorizado que analice las afinidades filogenéticas entre las especies de *Inula* distribuidas en el Mediterráneo occidental, donde los diferentes números básicos de cromosomas y niveles de ploidía disponibles sugieren que procesos de hibridación y poliploidización podrían haber jugado un papel muy importante en el establecimiento de algunas de las especies reconocidas en el género.

En cuanto al otro género objeto de esta tesis, *Filago* (Lám. II), engloba aproximadamente 45 especies (Galbany-Casals *et al.*, 2010) distribuidas en Europa, Asia y el Norte de África, y algunas introducidas y más o menos naturalizadas en otras partes del mundo. La especie tipo del género *Filago* es *F. pyramidata* L. (Hitchcock & Green, 1929; Buchheim & Wagenitz, 1965). Se caracterizan por ser pequeñas hierbas anuales con preferencia por los hábitats degradados o antropizados. Por lo general soportan bien ambientes xerofíticos, aunque algunas especies tienen áreas de distribución reducidas y/o requerimientos ecológicos aún más restringidos, como en el caso de las especies que medran en zonas salinas o en cubetas de alta montaña temporalmente inundadas. Los capítulos se disponen en una sinflorescencia más o menos contraída, en forma de glomérulos subglobosos o pulviniformes que rodeados por las hojas involucrantes, actúan en su conjunto como un capítulo secundario; los capítulos, generalmente han perdido las brácteas del involucre, cuya función ha sido asumida por la paleas del receptáculo, las cuales se han desarrollado considerablemente, presentan frecuentemente una flor filiforme en la axila y se disponen bien en filas verticales, o bien de manera helicoidal, rodeando en su conjunto a un grupo de flores hermafroditas (en ocasiones funcionalmente masculinas) que se sitúan en el centro de la inflorescencia. El corto ciclo de vida que presentan las especies de *Filago* – marcadamente condicionado por el régimen anual de precipitaciones– y el pequeño tamaño de estas plantas, junto con la ausencia de caracteres diagnósticos netos en algunas especies, han contribuido a dificultar la delimitación



taxonómica del género y a provocar frecuentes errores de determinación que han oscurecido el discernimiento de ciertos taxones.

Esta memoria está estructurada en capítulos presentados como artículos científicos, algunos de los cuales ya han sido publicados, otros están en prensa o en revisión, y otro será enviado a publicar en breve. La terminología botánica empleada en las secciones escritas en castellano se corresponde con la utilizada en *Flora iberica*, mientras que la usada en los capítulos escritos en lengua inglesa es la referida en Beentje (2010) e Hickey & King (2000). Cada uno de los capítulos se presenta como un trabajo independiente donde el enfoque sistemático prevalece como elemento transversal. Se tratan cuestiones de índole taxonómica y filogenética que se resuelven mediante el uso de diferentes metodologías, desde clásicas revisiones de material de herbario a modernas técnicas de biología molecular. De esta manera, las diversas aproximaciones llevadas a cabo en cada uno de los trabajos se complementan, con el objetivo general de intentar alcanzar una mejor interpretación de la diversidad existente en los géneros *Inula* y *Filago*.

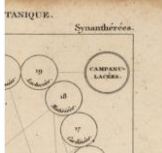
La realización de esta tesis ha sido posible gracias a un contrato predoctoral asociado parcialmente a una beca de la Universidad de Salamanca, cofinanciada por el banco Santander (convocatoria 2014), y a una beca FPI (BES-2015-071270) asociada a la fase X del proyecto *Flora iberica* subproyecto Salamanca (CGL2014-5287-C3-2-P) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO). Por otra parte, los trabajos que comprende esta tesis se han llevado a cabo gracias a la financiación concedida a diferentes fases del proyecto *Flora iberica* (fase VIII CGL2008-02982-C03-02/CLI, IX CGL2011-28613-C03-03 y X CGL2014-5287-C3-2-P) y, en algunos casos, parcialmente a través de otros proyectos nacionales (CGL2009-07555 y CGL2012-32574) o regionales (SA142A08).



Lám. I. (a) *Inula langeana*; (b) *Inula helenium*; (c) *Inula salicina*; (d) *Inula montana*; (e) *Inula bifrons*; (f) *Inula heleniodes*; (f) *Inula germanica*; (h) *Inula conyzae*.
Fotografías cedidas por Santiago Andrés Sánchez, María Santos Vicente y M. Montserrat Martínez Ortega



Lám. II. (a) *Filago congesta*; (b) *Filago duriaei*; (c) *Filago fuscescens*; (d) *Filago pyramidata*; (e) *Filago micropodioides*; (f) *Filago ramosissima*; (g) *Filago argentea*; (h) *Filago pygmaea*; (i) *Filago astericiflora*; (j) *Filago gaditana*; (k) *Filago lusitanica*; (l) *Filago castroviejoii*; (m) *Filago desertorum*; (n) *Filago mareotica*; (ñ) *Filago longilanata*; (o) *Filago prolifera*; (p) *Filago crocidion*; (q) *Filago discolor*; (r) *Filago hispanica*; (s) *Filago arvensis*.
Fotografías cedidas por Santiago Andrés Sánchez.



1.2. ESTRUCTURACIÓN DE LA MEMORIA DE TESIS DOCTORAL

La memoria doctoral ha sido estructurada en siete capítulos. Aparte del capítulo I que corresponde a esta Introducción, los capítulos del II al VI se corresponden con trabajos en formato de artículo científico, publicados en revistas incluidas en el Journal Citation Reports (JCR), o enviados y en revisión, o pendientes de enviar. Los capítulos II y III son trabajos sobre el género *Inula*, mientras que los capítulos IV-VI incluyen artículos sobre el género *Filago*. En el capítulo VII se exponen las conclusiones. En los apéndices se presentan trabajos derivados de la realización de esta tesis doctoral.

El capítulo II corresponde al artículo que lleva por título “Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*” (*Taxon*, en prensa). En este artículo se presenta una filogenia molecular del *Inula complex* (ver C en Fig. I), un grupo monofilético que engloba los géneros *Amblyocarpum* Fisch. & C.A.Mey., *Carpesium* L., *Chrysophthalmum* Sch. Bip., *Inula*, *Pentanema* Cass., *Rhanteriopsis* Rauschert, *Telekia* Baumg. y *Varthemia* DC. Esta filogenia está basada en la región ITS del DNA ribosómico nuclear y en tres regiones espaciadoras del ADN plastidial. Sobre la base de nuestros resultados y de otros datos cariológicos y morfológicos, concluimos que tanto el género *Inula* como *Pentanema* son parafiléticos en su circunscripción actual y se propone su nueva delimitación como entidades monofiléticas de la que se derivan 24 nuevas combinaciones nomenclaturales.

El capítulo III contiene un artículo en preparación titulado “Ahondado en el conocimiento taxonómico de las especies representantes del “*Pentanema conyzae clade*” en el Mediterráneo occidental mediante análisis de huella genética” donde se exponen los resultados obtenidos de un estudio pormenorizado de las especies de *Pentanema* pertenecientes al “*Pentanema conyzae clade*” y distribuidas en el Mediterráneo occidental. Para ello se ha llevado a cabo un análisis de huella genética de tipo AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) en el que se explora la estructuración y variabilidad genética de dicho grupo, además de una revisión morfológica de material de herbario. Como resultado de este trabajo, destaca la confirmación de la presencia de *Pentanema britannicum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. en la Península Ibérica, así como los datos presentados sobre el posible origen híbrido de las especies *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr. *et al.*, y *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.*

El capítulo IV incluye el artículo “Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae)” (*Bot. J. Linn. Soc.*, 2015, 179: 742-754). En el mismo se delimita el “*Filago desertorum clade*” (ver F en Fig. II) y se estudian las relaciones



filogenéticas entre las especies que lo constituyen, *i.e.*, *F. desertorum* Pomel y *F. mareotica* Delile. Para conseguirlo se realiza un estudio morfológico junto con análisis de huella genética tipo AFLP. Nuestros resultados concluyen que los especímenes distribuidos al norte del Atlas e identificados anteriormente como *F. desertorum* son en realidad un taxón diferente que no había sido descrito ni nombrado. Por esta razón, se describe una nueva especie para el género *Filago* distribuida por el SE de la Península Ibérica y el NO de África: *Filago castroviejo* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. Por último se aporta una iconografía de *F. castroviejo* y una clave de determinación para las especies incluidas en el clado de *Filago desertorum*.

El capítulo V contiene el artículo "*Filago longilanata* and *F. prolifera* (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the "*Filago desertorum* clade" rediscovered" (*Plant Biosyst.*, pendiente de aceptación). *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter es una especie que había pasado desapercibida desde su descripción, ya que la única recolección conocida y citada bajo ese nombre con anterioridad a este trabajo corresponde al único individuo que es el holótipo, y fue realizada por Maire en 1934; posteriormente, las pocas referencias que existen de este taxón en la literatura están referidas a ese material. Por otro lado, *F. prolifera* Pomel es una especie muy escasamente representada en los herbarios y el material depositado proviene en su mayoría de recolecciones realizadas a principios del siglo XX. En este trabajo se aportan dos nuevas localidades de *F. longilanata* y tres de *F. prolifera* en Marruecos. También se presenta la primera filogenia que incluye a estos dos taxones, basada en las regiones espaciadoras ITS y ETS del ADN ribosómico nuclear y en una región espaciadora del ADN plastidial. Las reconstrucciones filogenéticas obtenidas a partir de las secuencias de ADN indican que ambas especies forman parte del "*Filago desertorum* clade". Además se incluyen descripciones mejoradas de las dos especies junto con sus primeras iconografías. Por último, se presenta una clave de identificación completa para las especies del "*Filago desertorum* clade".

El capítulo VI contiene la nota técnica titulada "Description of 10 SSR Markers in three species of the genus *Filago* L. (Asteraceae) and cross-amplification" (*Appl. Plant Sci.*, en revisión) donde se desarrollan unos marcadores moleculares de tipo microsatélite (Single Sequence Repeat) para el género *Filago*, concretamente optimizados en dos taxones de *Filago* L. subgen. *Filago*: *F. carpetana* (Lange) Chrték & Holub y *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany, y se comprueba su transferibilidad tanto a otras especies del subgénero como a otras del resto de subgéneros de *Filago*.

M. Englund et al. / Cladistics 25 (2009) 319–352

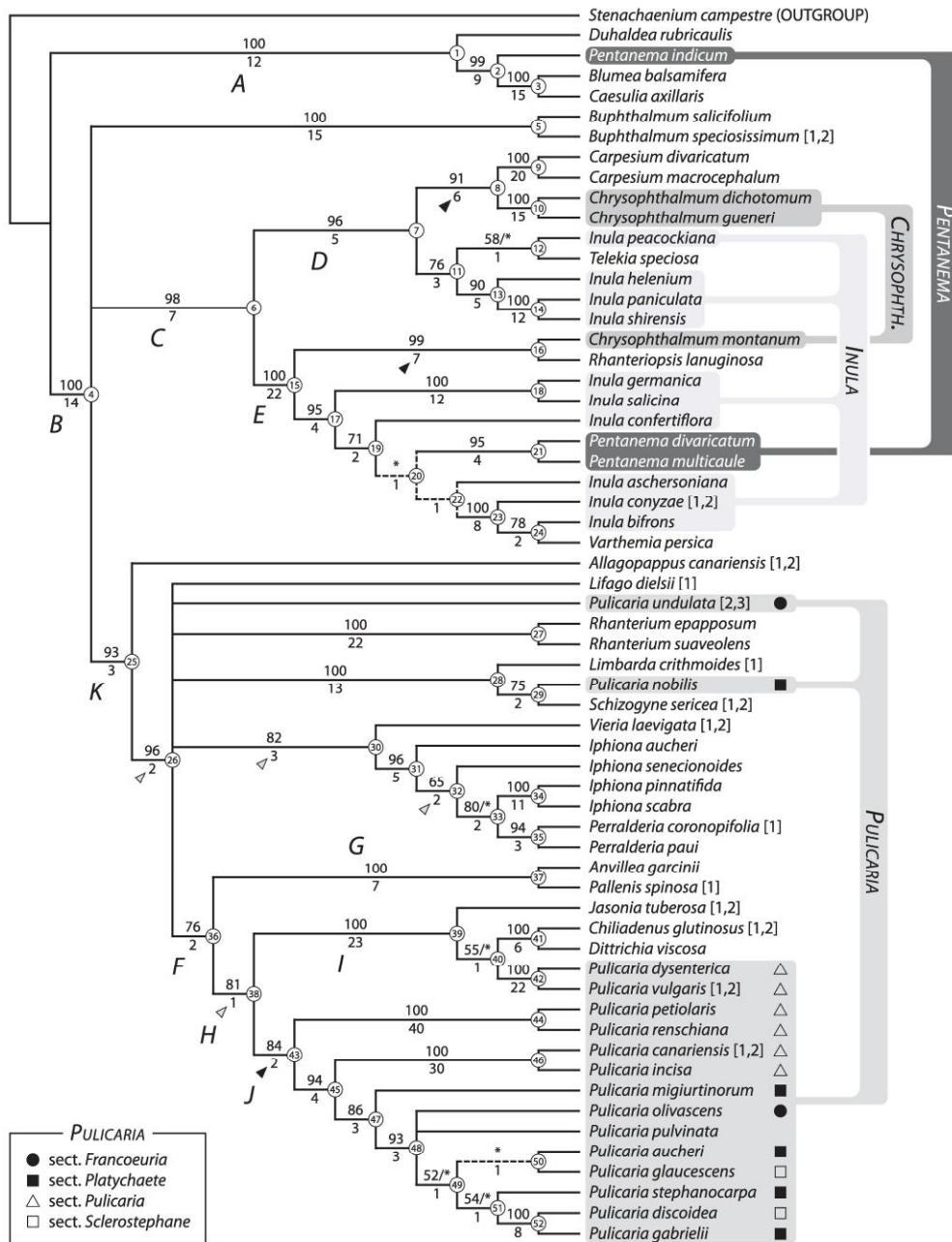


Fig. 1. Figura extraída de Englund *et al.* (2009) donde se muestra una reconstrucción filogenética obtenida mediante el análisis de parsimonia de la región ITS del ADN ribosómico nuclear para taxones de la subtribu Inuleae-Inulinae. Los números sobre las ramas indican el valor de soporte *Jackknife* $\geq 50\%$. El valor de apoyo *Bremer support* se corresponde con los números bajo las ramas. Los asteriscos representan ramas con BPP (*Bayesian posterior probabilities*) < 0.95 . Las líneas discontinuas representan ramas con un valor de apoyo *Jackknife* $< 50\%$. El *Inula complex* está indicado en la figura por la letra C.



En el capítulo VII se exponen las conclusiones generales obtenidas de los trabajos llevados a cabo para la elaboración de esta memoria doctoral.

En el apartado apéndices se incluyen otros tres trabajos derivados de la realización de la tesis doctoral. El primero de ellos es la síntesis del género *Inula* para la obra *Flora iberica*, que se encuentra ya en su última fase, la edición técnica en Madrid, previa a su publicación (prevista para mediados de 2018) en el volumen XVI-3 de dicha obra; en esta síntesis, además de la colaboración en la realización del capítulo mediante una revisión de material de herbario o en el campo, comprobación y redacción de claves y descripciones, también se reflejan los resultados recientes incluidos en los capítulos II y III de esta memoria doctoral. En esa síntesis genérica se sigue el sentido tradicional de *Inula*, debido a que los cambios nomenclaturales expuestos en el capítulo II son muy recientes y aún no han podido ser aceptados de manera general ni, sobre todo, adoptados por las floras o las bases de datos al uso y, por ello, se ha preferido continuar con el criterio generalmente conservador de *Flora iberica*, algo habitual en muchas floras. El segundo y tercer trabajo se corresponden con dos notas corológicas recogidas en los artículos titulados “Nuevas aportaciones para el género *Filago* L. en las comunidades autónomas de Castilla y León y Aragón” (publicado en *Flora Montiberica* 65: 67-60, 2016) y “*Filago desertorum* Pomel en la Península Ibérica” (*Acta Bot. Malacit.*, en prensa). En el primer trabajo, se aporta el hallazgo en dos nuevas localidades de *F. crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub en las provincias de Soria y de Teruel y constituyen dos novedades provinciales y autonómicas para esta especie, dado que había sido citada solamente en la Serranía de Cuenca, Sierra Nevada y el sur de Sierra de Pela. También se cita por primera vez *F. congesta* Guss. ex DC. en las provincias de Soria, novedad autonómica para esta especie distribuida principalmente por el Levante y SE Ibérico. En el segundo trabajo, se confirma la presencia de *F. desertorum* en el SE de la Península Ibérica y, por ende, en Europa.

Finalmente, entre los apéndices también se incluye una copia de las comunicaciones, tipo *poster*, presentadas en congresos a lo largo del desarrollo de la tesis doctoral y como consecuencia de los trabajos de la misma.

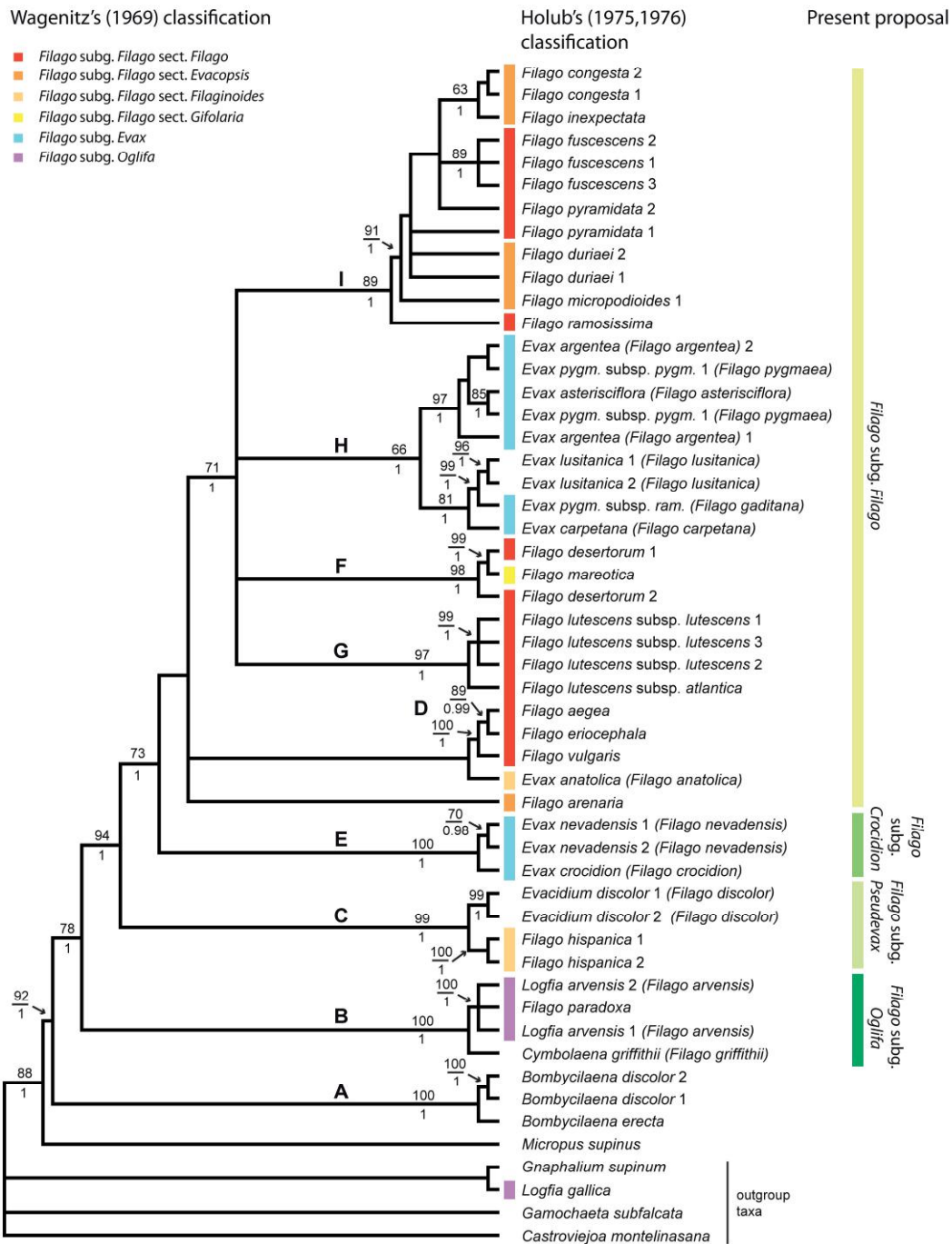
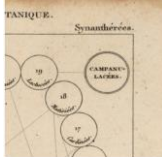


Fig. II. Figura extraída de Galbany-Casals *et al.* 2010 donde se muestra una reconstrucción filogenética obtenida mediante el análisis de las regiones ITS+ETS+*rpl32-trnL* (regiones espaciadoras del ADN ribosómico y plastidial) para especies del grupo *Filago*. Los valores de apoyo ≥ 0.95 BPP (*Bayesian posterior probabilities*) del análisis bayesiano están representados por los números bajo las ramas. Los valores de apoyo >60 BS (*Bootstrap support*) del análisis de parsimonia se encuentran sobre las ramas. Las clasificaciones de Wagenitz y Holub para el grupo *Filago* se pueden contrastar con la propuesta de Galbany-Casals *et al.* (2010). El "*Filago desertorum* clade" se corresponde en la figura con el clado señalado por la letra F.



1.3. ANTECEDENTES HISTORICOS

1.3.1. *Sobre los géneros Inula y Filago: breve encuadre taxonómico.* — La familia Asteraceae es uno de los grupos naturales más fáciles de reconocer gracias al tipo de inflorescencia de los taxones que lo integran, no obstante, con cerca de 24000 especies aceptadas (*sensu* Funk *et al.*, 2009), también es uno de los grupos más diversos, mostrando una variabilidad excepcional entre la morfología de las especies que lo componen. La delimitación de los diferentes grupos pertenecientes a la familia Asteraceae se ha visto oscurecida fundamentalmente por procesos de evolución paralela, lo que ha conducido a interpretaciones erróneas de la morfología de algunos taxones. Esto ha causado que los tratamientos taxonómicos propuestos para este linaje de reciente radiación hayan oscilado a lo largo de la historia entre propuestas más sintéticas o más analíticas, hasta llegar al acuerdo vigente en la actualidad de dividirlo en 12 subfamilias (Funk *et al.*, 2009). En cuanto a los géneros que nos ocupan, ambos se incluyen en la subfamilia Asteroideae, y dentro de esta en las tribus Inuleae (*Inula*) y Gnaphalieae (*Filago*). No obstante, las posibles afinidades taxonómicas de los géneros *Inula* y *Filago* han sido interpretadas de diferentes maneras por los distintos autores a lo largo de la historia. En ciertos momentos fueron considerados géneros que estaban relativamente próximos, siendo clasificados en muchas ocasiones en la misma tribu. A continuación se expone brevemente un recorrido por los diferentes tratamientos propuestos en niveles inferiores a familia en relación a los géneros objeto de este estudio.

El primer sistema de clasificación en el que aparecen *Inula* y *Filago* fue el propuesto por Linnaeus (1753). En este primitivo tratamiento tanto *Inula* como *Filago* se encuadran dentro de la clase *Syngenesia*, que se caracteriza por presentar las anteras soldadas formando un cilindro que es traspasado por el estilo. Sin embargo, mientras que el grupo de especies que actualmente relacionamos con *Inula* quedan incluidas en el orden *polygamia superflua*, dado que tanto las flores del disco como las radiadas son fértiles, las especies del grupo *Filago* son recogidas dentro de *polygamia necessaria*, debido a que sus flores hermafroditas internas son funcionalmente masculinas.

El siguiente autor que llevó a cabo una revisión importante del grupo fue Alexandre-Henri-Gabriel de Cassini, reconocido como una de las figuras más importantes dentro de la sinanterología. Fue el primer taxónomo en efectuar un estudio exhaustivo de la diversidad de las Compuestas mediante el análisis comparado de cada uno de los caracteres reproductivos florales (estilo, estigma, estambre, corola, aquenio y vilano). Sobre la base de sus resultados, Cassini (1819a) estableció la primera clasificación tribal de las Compuestas, donde distinguió 20 grupos, muchos de los cuales han sido reconocidos hasta la actualidad. Entre ellos destacamos la tribu XII^o: Inuleae (“*Les Inulées*”), definida entre



otros caracteres por la presencia de apéndices basales en las anteras, forma y disposición de las ramas estilares (estigmatóforos), y forma y disposición del vilano. Cassini (1822) incluyó tanto al género *Filago* como el género *Inula* dentro de la tribu Inuleae, y clasifica los dos géneros juntos dentro de la sección Inuleae-Archetypae (“*Inulées-Prototypes*”), caracterizada por brácteas involucrales (periclino) no escariosas, ramas estilares (estigmatóforos) redondeados en la parte superior, y apéndices basales no poliníferos de mayor tamaño que en las especies pertenecientes al resto de secciones. Cassini también describe la sección Inuleae-Gnaphalieae (“*Inulées-Gnaphaliées*”) donde recoge el resto de géneros que actualmente consideramos dentro de Gnaphalieae. Cassini acuñó el nombre Gnaphalieae, aunque fueron Lecoq & Juliet (1831) los que le otorgan por primera vez el rango de tribu. No obstante y como se expone a continuación, esta categoría taxonómica no fue adoptada por el resto de autores hasta muchos años más tarde.

La clasificación tribal de Cassini llega en parte hasta nuestros días, no obstante también ha tenido detractores, como es el caso de Christian Friedrich Lessing. A pesar de que sus estudios se apoyaron mayoritariamente en la clasificación de Cassini (1819a), Lessing considera que varias de las tribus propuestas por este autor no son grupos naturales, y reduce el número de las mismas a ocho (Lessing, 1832). Lessing rompe Inuleae y la hace desaparecer, los taxones adscritos a la misma son repartidos entre las tribus Astereae (“*Asteroideae*”) y Senecioneae (“*Senecionideae*”). En el caso de *Inula* y *Filago*, ambos géneros son clasificados dentro de las Astereae, pero en diferentes subtribus. Mientras que *Inula* permanece en la subtribu Inulinae (“*Inuleae*”), *Filago* queda adscrito a la subtribu Tarchonanthinae (“*Tarchonanthae*”).

Augustin-Pyrame de Candolle sigue el sistema de clasificación tribal de Lessing, con *Inula* adscrito a la tribu Astereae (“*Asteroideae*”), aunque incluye *Filago* en Senecioneae (“*Senecionideae*”) en los respectivos volúmenes V y VI de su hercúlea obra *Prodromus Systematis [..]* (1836, 1838), y no es hasta el tratamiento de Willkomm y Lange cuando encontramos un esquema de organización tribal más cercano a las ideas de Cassini. En Willkomm (1870a, b) el grupo de especies donde se incluye el género *Filago* y afines (*v.gr.*, *Leyssera* L., *Ifloga* Cass., *Lasiopogon* Cass., *Gnaphalium* L. entre otros) se eleva al rango taxonómico tribal [Trib. VII. Gnaphalieae (“*Gnaphalioideae*”)] mientras que *Inula* permanece en la recuperada tribu Inuleae.

Más adelante, George Bentham también retoma el esquema tribal de Cassini, pero relega a las Gnaphalieae a la categoría de subtribu, una de las nueve que integran Inuleae *sensu* Bentham (1873). En su tratamiento, los taxones que integran Inuleae se dividen en dos grupos en función del tipo de flores exteriores (filiformes *versus* liguladas), y a su vez en subtribus (Tarchonanthae, Plucheineae, Filagineae, Gnaphalieae, Angianthae *versus*



Relhanieae, Athrixieae, Euinuleae y Buphthalmeae) en relación a diferentes caracteres del receptáculo, involucro y estilo. Este último tratamiento propuesto por Bentham ha tenido mucha aceptación casi hasta la actualidad y ha sido seguido en muchas Floras durante los siglos XX y XXI, en concreto y por citar una de referencia continental, *Flora Europaea* (Tutin *et al.*, 1976).

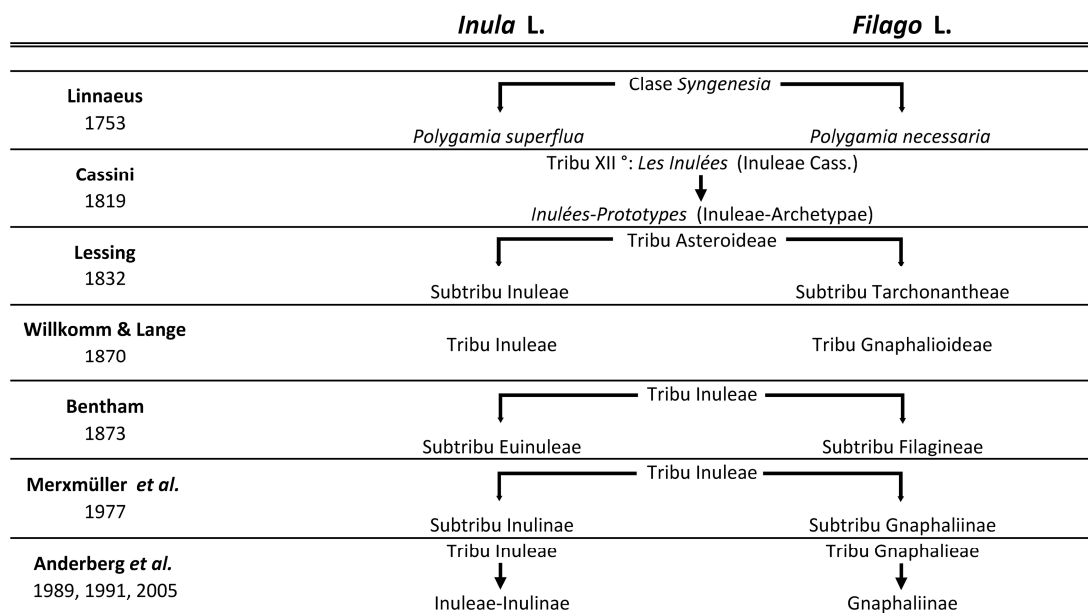
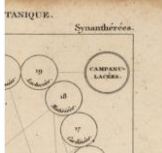
Hermann Merxmüller *et al.* proponen una nueva reclasificación de la tribu Inuleae basándose en un estudio detallado –facilitado por las nuevas tecnologías de la época– de la estructura del grano de polen y de las ramas estilares junto con caracteres cariológicos, fitoquímicos y citológicos. Como resultado (Merxmüller *et al.*, 1977) proponen la división de Inuleae en tres subtribus; Gnaphaliinae (donde se incluye *Filago*), Inulinae (donde se incluye *Inula*) y Athrixiinae.

Arne A. Anderberg realiza un estudio de la tribu (1989) a finales del siglo XX mediante una aproximación cladística basándose en 55 caracteres. Como resultado divide Inuleae *sensu* Merxmüller *et al.* en tres tribus: Inuleae, Gnaphalieae y Plucheae. Esta división de Inuleae en tres tribus ha sido apoyada por posteriores estudios moleculares (Kim & Jensen, 1995; Eldenäs *et al.*, 1999), aunque el grupo de taxones adscrito a Plucheae ha vuelto a ser incluido dentro de Inuleae como uno de los dos linajes que conforman la tribu (Inuleae-Inulinae e Inuleae-Plucheinae), sobre la base de los resultados de Anderberg *et al.* (2005).

Este último tratamiento propuesto por Anderberg es el aceptado en Funk *et al.* (2009), la obra actual de referencia para el estudio de las Compuestas. Además de presentar un tratamiento para cada uno de los grupos dentro de la familia Asteraceae, en este trabajo también se desarrolla una filogenia para todo el grupo a partir de una metodología basada en la combinación de árboles filogenéticos (metatrees) obtenidos a partir de los resultados de multitud de trabajos moleculares ya publicados.

La Tabla I resume los diferentes tratamientos que han delimitado las categorías taxonómicas a las que han sido adscritos *Inula* y *Filago* a lo largo de la historia.

1.3.2. ***Sobre la circunscripción del género Inula L.: breves notas taxonómicas.*** — El género *Inula* fue descrito por Linnaeus en el *Species plantarum* (1753) donde incluye trece especies dentro de *Inula*, las cuales en la actualidad se encuentran contenidas en tres géneros diferentes (*i.e.*, *Inula*, *Pulicaria* Gaernt., y *Limbarda* Adans.). La mayoría de las especies europeas fueron descritas por el autor sueco en obras posteriores y su nomenclatura se ha mantenido estable hasta la actualidad (*i.e.*, *I. britannica* L., *I. hirta* L., *I. salicina* L., *I. montana* L., *I. ensifolia* L., *I. spiraeifolia*, *I. germanica* L., *I. oculus-christi* L., *I. bifrons* L.).



Tab. I. Taxones a los que han sido adscritos *Inula* y *Filago* en los tratamientos más relevantes a lo largo de la historia.

Günther Beck fue el primer autor en realizar una monografía exhaustiva sobre el género *Inula* en su obra *Inulae Europae: Die Europäischen Inula-Arten* (1882), donde incluye todas las especies europeas de *Inula* conocidas hasta el momento junto con alguna especie asiática (i.e., *I. orientalis* Lam., *I. caspia* Blume). Considera un total de 35 taxones y los agrupa en cuatro secciones: *I. sect. Corvisartia* (Mérat) DC., *I. sect. Enula* (Boemer) Duby, *I. sect. Limbarda* (Adans.) DC. e *I. sect. Cupularia* Gren. & Godr. en una clasificación que podemos tildar de sintética, ya que decide preservar *Inula* en un sentido amplio en lugar de proponer cuatro géneros diferentes.

A diferencia de *I. sect. Enula* donde se encuadra el grueso de especies europeas del género *Inula* (v.gr., *I. salicina*, *I. montana* e *I. britannica*., entre otras), en *I. sect. Corvisartia* solo se recoge *I. helenium*, especie tipo no solo del género *Inula*, sino también de la tribu Inuleae. *Inula* sect. *Corvisartia* viene nombrada por el género homónimo a la sección, propuesto por Mérat (1812) y descrito únicamente para acoger a la especie *Corvisartia helenium* (L.) Mérat actualmente bajo la sinonimia de *I. helenium*. La independencia de *Corvisartia* Mérat de *Inula* está argumentada sobre la base del diferente tamaño y forma de las brácteas exteriores del involucre que Mérat describe de dos tipos; las exteriores grandes, ovalado-trapezoidales y vilosas, frente a las interiores lineares y glabras. Aunque algunos autores (Reichenbach, 1854; Schur, 1885) siguieron las ideas de Mérat respecto a la independencia de *Inula* frente a *Corvisartia*, la tendencia general seguida por la mayoría de los autores posteriores ha sido adoptar el tratamiento de Beck, donde quedan recogidas



gran parte de las especies europeas actualmente aceptadas bajo *Inula*. En la actualidad, de las cuatro secciones consideradas por Beck, solo siguen incluidas en *Inula* las especies pertenecientes a *I. sect. Corvisartia* e *I. sect. Enula*. Los taxones correspondientes a las otras dos secciones ahora se clasifican dentro de géneros independientes: *Limbarda* y *Dittrichia* Greuter.

Tratamientos posteriores a Beck han incluido parte de las especies de *Inula* distribuidas en Asia y África (Borbás, 1887; Hoffmann, 1897; Grierson, 1975), pero no existe un tratamiento completo para todo el género, ya que las especies asiáticas han sido estudiadas por separado (Boissier, 1875; Avetissjan, 1958; Yong, 1979; Rechinger, 1980; Gorschkova, 1999; Qasier & Abid, 2003; Chen & Anderberg, 2011). La ausencia de un tratamiento taxonómico completo para todo el género pone en manifiesto la complejidad de establecer los caracteres diagnósticos del mismo. Dado que el género es caracterizado actualmente dentro de Inuleae por la ausencia de caracteres distintivos (Anderberg, 1991b; Duman & Anderberg, 1999), el incremento gradual de especies incluidas en *Inula* ha convertido su delimitación en una suerte de cajón de sastre. Estas ideas se ponen de manifiesto tras la reclasificación de la tribu Inuleae propuesta por Anderberg (1989) y sus posteriores monografías genéricas sobre las tribus desgajadas de Inuleae *sensu* Merxmüller. La monografía de Inuleae *sensu* Anderberg (Anderberg, 1991b) revela que el género *Inula* solo se puede caracterizar mediante simplesiomorfias, y que es parafilético y heterogéneo respecto a varios estados de carácter (*v.gr.*, presencia o ausencia de canales resiníferos en el tallo, número cromosómico, morfología del aquenio, estructura del vilano). También propone una serie de grupos “tentativos”, que lejos de constituir un tratamiento formal para el género, dejan entrever la complejidad existente en la delimitación del mismo.

Diversos trabajos posteriores (Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009; Nylinder & Anderberg, 2015) basados en el análisis de diferentes datos moleculares (principalmente secuencias espaciadoras del ADN ribosómico nuclear y de regiones del ADN plastidial) han reafirmado el estatus parafilético del género *Inula* en su circunscripción tradicional (Fig. 1). En estos trabajos *I. helenium* siempre se recupera en una posición filogenética más cercana a otros géneros (*v.gr.*, *Carpesium*, *Telekia*) del *Inula complex* (*i.e.*, *Amblyocarpum*, *Carpesium*, *Chrysophthalmum*, *Inula*, *Pentanema*, *Rhanteriopsis*, *Telekia* y *Varthemia*) que a un gran grupo de especies pertenecientes a *Inula* [*v.gr.*, *I. conyzae* (Griess.) Meikle, *I. montana*, *I. bifrons*, *I. oculus-christi* entre otras]. La única tentativa de solucionar este problema taxonómico-nomenclatural y que así fuera posible posteriormente establecer una clasificación natural fue realizada por Santos-Vicente *et al.* (2012). Para ello y sobre la base de los resultados anteriormente mencionados y de otros caracteres morfológicos,



Santos-Vicente *et al.* (2012) consideran que transferir *I. helenium* y especies afines (*I. sect. Corvisartia sensu* Santos-Vicente incluye además de *I. helenium*, *I. koeltzii* R.Dawar & Quasier, *I. magnifica* Lipsky, *I. racemosa* Hook.f. e *I. royleana* DC.) al género *Corvisartia* y conservar el nombre *Inula* para el resto de especies con un tipo conservado (*I. hirta*) es la mejor solución, ya que implica un menor número de nuevas combinaciones. Esta proposición fue rechazada por el Comité Internacional de Nomenclatura Botánica (Appelquist, 2013), que considera desafortunado transferir *I. helenium* al género *Corvisartia* argumentando que *I. helenium* es la especie tipo, tanto del género *Inula*, como de la tribu Inuleae, y que es bien conocida entre los no especialistas por su uso medicinal. En todo caso y como resolución de dicho Comité (Appelquist, 2013), *I. helenium* debe permanecer dentro de *Inula*, independientemente de que sea necesaria la fragmentación del género en su sentido tradicional en un gran número de pequeños géneros.

La gran variabilidad de ciertos caracteres morfológicos en algunas especies del género *Inula* (*v.gr.*, indumento, forma de la hoja) queda patente en el trabajo de varios autores, pues ha dado pie a la descripción de numerosas especies, híbridos, o formas de escasa validez dentro de la variabilidad morfológica de una especie determinada ya bien reconocida. Por citar un ejemplo, en el caso de la Península Ibérica destacan los trabajos de Carlos Pau Español, que a lo largo de su prolija producción florística-taxonómica describe 20 taxones diferentes que actualmente están en sinonimia de *I. helenioides* DC (*v.gr.*, *I. asteriscus* Pau, *I. casaviellae* Pau, *I. hispanica* Pau, *I. stenophylla* Sennen & Pau, *I. turolensis* Pau). En otros casos, el estatus taxonómico de ciertas plantas ha estado en entredicho debido a similitudes morfológicas con especies de distribución más amplia. Esta situación viene representada por la especie *I. langeana* Beck que ha sido descrita como híbrido [*v.gr.*, *I. x senenii* Pau (= *I. montana* x *I. vulgaris*); *I. x gutierrezii* Pau (= *I. conyzae* x *I. lutescens*)] o subordinada en el nivel de subespecie [*i.e.*, *I. conyzae* subsp. *sennenii* Pau; *I. conyzae* subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela] aunque autores contemporáneos ya la consideran en el nivel taxonómico de especie (*i.e.*, Aseginolaza *et al.*, 1984, *I. sennenii* Pau; Romero & Rico, 1989, *I. langeana*; Santos-Vicente, 2013).

Santos-Vicente (2013) presenta el tratamiento taxonómico más completo para las especies del género *Inula* distribuidas en el Mediterráneo Occidental. También cabe destacar entre sus aportaciones los numerosos recuentos cromosómicos publicados (Santos-Vicente *et al.*, 2009; 2013) para dichas especies, los cuales dejan entrever la relevancia que podrían haber tenido diferentes eventos de poliploidización, en la conformación de las especies de *Inula* distribuidas en el Mediterráneo Occidental.

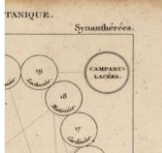


No obstante, todavía no ha sido aceptado ningún tratamiento alternativo para el *Inula complex* que refleje de manera correcta las relaciones evolutivas de los géneros que lo integran, a pesar del estatus parafilético que presentan tanto *Inula* como *Pentanema*. Tampoco existe ningún estudio pormenorizado que confirme la identidad de algunos taxones ibéricos y su posible origen, ni que explique las relaciones filogenéticas existentes entre los mismos.

1.3.3. ***Sobre la circunscripción del género Filago L.: breves notas taxonómicas.*** — El grado de complejidad del género *Filago* queda patente cuando Linnaeus (1753) describe seis especies en *Filago* repartidas en tres apartados diferentes del *Species Plantarum*. *Filago pygmaea* L. ("*F. pygmaea*") y *F. maritima* L. están incluidos en *polygamia necessaria*, mientras que *F. pyramidata* está descrito en los apéndices. Finalmente, en la adenda de la obra transfiere a *Filago* una serie de especies descritas en *Gnaphalium* L. (i.e., *G. germanicum* L., *G. montanum* L., *G. arvensis* L. y *G. gallicum* L.). También una como sinónimos heterotípicos *F. pyramidata* y *Gnaphalium germanicum* L. [= *F. germanica* (L.) Huds.], actualmente consideradas dos especies diferentes.

La delimitación de *Filago* y de los géneros afines a *Filago* ha variado de forma considerable a lo largo de la historia a partir de la obra de Linneo. Esto se debe principalmente a causa de las similitudes morfológicas que presentan las plantas adscritas a este grupo. Estas similitudes, combinadas con la fuerte plasticidad morfológica vinculada a las condiciones ambientales, y con la distribución simpátrica de algunas de estas especies –cuyos caracteres diagnósticos son en ocasiones muy sutiles y difíciles de detectar e interpretar– ha provocado una auténtica danza taxonómica a lo largo de la historia entre los diferentes géneros y especies. Por ese motivo, no se puede entender el recorrido taxonómico de *Filago* sin referirnos a los géneros afines a él, que actualmente constituyen el grupo *Filago*, y que se verán introducidos a lo largo de este epígrafe.

Cassini fue el primer autor que lleva a cabo un estudio minucioso del grupo (1819b, 1822), y mediante su juego de anagramas propuso diferentes nombres a los géneros que sirvieron para clasificar la variabilidad de estas plantas: *Gifola* Cass., *Logfia* y *Oglifa* (Cass.) Cass., que junto con los géneros *Bombycilaena* (DC.) Smoljan., *Evax* Gaertn., *Filago* y *Micropus* L. constituirán los principales actores del baile taxonómico perpetuado posteriormente. En lo que se refiere a estudios con plantas ibéricas, destacan las aportaciones de Willkomm (1870b) que interpreta los géneros descritos por Cassini como secciones dentro de *Filago* [i.e., *F. sect. Gifola* (Cass.) DC., *F. sect. Logfia* (Cass.) Boiss. y *F. sect. Oglifa* (Cass.) DC.].



Pomel (1874, 1888) amplia el conocimiento del grupo, describe varias especies para el Norte de África (v.gr., *Evax crocidion* Pomel, *Filago desertorum* Pomel) y también propone nuevos géneros [v.gr., *Evacidium* Pomel, *Evacopsis* Pomel, *Gifolaria* (Coss. & Kralik) Pomel y *Pseudevax* Pomel] para clasificar las nuevas especies (v.gr., *Evacopsis montana* Pomel) y reclasificar las ya pertenecientes al grupo [v.gr., *Evacopsis mareotica* (Delile) Pomel].

Wagenitz y Holub son los principales autores que trabajan en el género durante las décadas de los 60 y 70 del siglo XX, y plantean ideas totalmente opuestas a la hora de delimitar el género *Filago*. Wagenitz (1969) propone un tratamiento muy sintético, donde se reconoce un único género *Filago* en un sentido muy amplio, el cual engloba a la mayoría del resto de géneros relacionados (v.gr., *Evacopsis*, *Evax*, *Gifola*, *Logfia*, *Oglifa*) y reconoce solo la independencia de *Bombycilaena*, *Chamaepus* Wagenitz, *Cymbolaena* Smoljan y *Micropus*. Holub (1975, 1976) por el contrario considera siete géneros distintos (i.e., *Bombycilaena*, *Cymbolaena*, *Evacidium*, *Evax*, *Filago*, *Logfia* y *Micropus*).

A finales de siglo XX cabe destacar el trabajo realizado por Anderberg, que tras romper *Inuleae sensu* Merxmüller *et al.* (Anderberg, 1989), realiza su monografía de la tribu Gnaphalieae (Anderberg, 1991a) donde reconoce los mismos géneros que Holub, a excepción de *Evax* que es transferido a la sinonimia de *Filago*. Más adelante Greuter (2008) en su catálogo de plantas de la Región Mediterránea retoma el concepto genérico propuesto por Wagenitz, considerando que *Evax*, *Filago* y *Logfia* deben pertenecer al mismo género.

Galbany-Casals *et al.* (2010) presentan la primera filogenia molecular detallada para el grupo *Filago* (Fig. II) mediante el análisis de las regiones espaciadoras (ETS e ITS) del ADN ribosómico y una región espaciadora del ADN plastidial. Sobre la base de estos resultados proponen un nuevo tratamiento taxonómico para el grupo, desarrollado en Andrés-Sánchez *et al.* (2011) donde se reconocen cuatro subgéneros (Fig. II) dentro de *Filago*; *F.* subgen. *Crocidion* Andrés-Sánchez & Galbany, *F.* subgen. *Filago*, *F.* subgen. *Oglifa* (Cass.) Gren. y *F.* subgen. *Pseudevax* (DC.) Andrés-Sánchez & Galbany. Además, los géneros *Cymbolaena*, *Evacidium* y *Evax* pasan a la sinonimia de *Filago*, y *Logfia arvensis* (L.) Holub se transfiere a *Filago*. Este último tratamiento está apoyado, tanto por datos del tamaño genómico (*genome size*) (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013), como de la morfología del aquenio (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015).

A pesar de que estos trabajos contribuyeron a ampliar netamente el conocimiento sobre el género, parece necesario incluir un mayor número de muestras en futuros análisis filogenéticos, ya que la gran plasticidad morfológica de las especies de este grupo complica su delimitación (Wagenitz, 1969; Galbany-Casals *et al.*, 2010) y debido también a que, en algunos casos (Galbany-Casals *et al.*, 2010), se ha encontrado cierto grado de diversidad



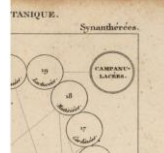
molecular intraespecífica. Es de especial interés ampliar el esfuerzo de muestreo en los clados escasamente representados en cuanto a número de especies en estudios anteriores, como en el caso del “*Filago desertorum clade*” (F en Fig. II); para este clado en Galbany-Casals *et al.* (2010) solo se incluyeron tres muestras correspondientes a *F. desertorum* y *F. mareotica*. Además, la escasa resolución que presentan los marcadores moleculares utilizados en estos estudios anteriores no permite discernir las relaciones de parentesco entre cada uno de los clados identificados para *Filago* subgen. *Filago* (Fig. II), razón por la que es preciso buscar un marcador molecular que muestre mayor variabilidad en dicho nivel de estudio.



1.4. OBJETIVOS GENERALES

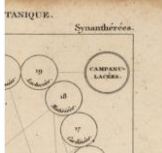
A partir de los conocimientos previos que poseíamos acerca de los géneros *Inula* y *Filago* al inicio de esta tesis doctoral, se plantea para el desarrollo de la misma el cumplimiento de los siguientes objetivos:

- 1- Comprobar el estatus monofilético del *Inula complex* (*sensu* Englund *et al.*, 2009) mediante una filogenia molecular que incluya un mayor número de especies y un mayor número de individuos por especie que las anteriormente publicadas por otros autores, analizar las relaciones filogenéticas existentes entre dichas especies y evaluar el estatus monofilético de las mismas.
- 2- Realizar las propuestas nomenclaturales pertinentes para obtener una delimitación monofilética de los géneros que componen el *Inula complex* y explorar la variabilidad morfológica de los mismos con el fin de buscar caracteres que apoyen esas decisiones taxonómicas.
- 3- Efectuar un análisis de variabilidad y estructuración genética a nivel interespecífico, así como una revisión de material de herbario de las especies de *Inula* incluidas en el "*Inula conyzae clade*", distribuidas en el Mediterráneo occidental. Tratar de confirmar si dichas especies son o no monofiléticas, conocer los procesos implicados en la evolución del grupo y proponer claves para las especies cuya identificación ha resultado tradicionalmente más difícil.
- 4- Realizar una revisión morfológica en las especies pertenecientes al "*Filago desertorum clade*" –*F. desertorum* y *F. mareotica*– y explorar su variabilidad genética en la Península Ibérica y Norte de África mediante un marcador de huella genética tipo AFLP. Confirmar o no la monofilia de dichas especies.
- 5- Investigar la posición filogenética de otras especies norteafricanas de *Filago* no incluidas en trabajos anteriores y realizar un tratamiento nomenclatural y descripciones completas para dichas especies.
- 6- Desarrollar un marcador molecular tipo SSR (Simple Sequence Repeat) que presente la variabilidad necesaria para resolver las relaciones de parentesco entre los diferentes clados reconocidos en *F.* subgen. *Filago sensu* Galbany-Casals *et al.* (2010).



1.5. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ANDERBERG, A.A. 1989. Phylogeny and reclassification of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Can. J. Bot.* 67: 2277—2296.
- ANDERBERG, A.A. 1991a. Taxonomy and phylogeny of the tribe Gnaphalieae (Asteraceae). *Opera Bot.* 104: 5—195.
- ANDERBERG, A.A. 1991b. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 176: 75—123.
- ANDERBERG, A.A., ELDENÁS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M. 2005. Evolutionary relationships in the tribe Inuleae (incl. Plucheeae) evidenced by DNA sequences of *ndhF*; with notes on the systematic position of some aberrant genera. *Org. Divers. Evol.* 5: 135—146.
- ANDERBERG, A.A. 2009. Inuleae. Pp. 667—680 in: FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYES, R.J. (eds.). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed: Typification of several names. *Taxon* 60(2): 572—576.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S. 2012. *Estudio Biosistemático del género Filago L. y géneros afines (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. PhD dissertation, University of Salamanca, Salamanca, Spain.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., TEMSH, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2013. Genome size in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Phylogenetic, evolutionary and ecological implications. *Plant. Syst. Evol.* 299: 331—345.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, M., BERGMEIER, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Further evidence of morphological homoplasy. *Plant. Syst. Evol.* 301: 1653—1668.
- APPLEQUIST, W.L. 2013. Report of the Nomenclature Committee for Vascular Plants: 65. *Taxon* 62(6): 1315—1326.
- ASEGINOLAZA, C., GÓMEZ, D., LIZAU, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRÍA, M.R. & URIBE-ECHEBARRÍA, P.M. 1984. *Catálogo florístico de Alava, Vizcaya y Guipúzcoa*. Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, España.
- AVETISSJAN, V.E. 1958. Caucasian representatives of the genus *Inula* L. *Izv. Akad. Nauk. Armyansk. S.S.R., Biol. Sel'skokhoz. Nauki* 11: 1—72.
- BECK, G. 1882. *Die Europäisechen Inula-Arten*. Der Kaiserlichen-Königlichen Hof- und Staatsdruckerei, Wien, Österreich.
- BEENTJE, H. 2010. *The Kew Plant Glossary: an illustrated dictionary of plant terms*. Royal Botanical Gardens, Kew, United Kingdom.
- BENTHAM, G. 1873. Tribus IV. Inuloideæ. Pp. 180—318 in: BENTHAM, G & HOOKER, J.D. (eds.) *Genera Plantarum*, vol. II. Lovell Reeve & Co., Londini, Britannia.
- BOISSIER, E. 1875. *Flora orientalis*, vol. III. H. Georg, Genevæ et Basileæ. Helvetia.
- BORBÁS, V. 1887. Die ungarischen *Inula*-Arten, besonders aus der Gruppe der *Enula* (Inulae Hungaricae, imprimis sectionis *Enulae*). *Bot. Jahrb. Syst.* 8: 222-243.
- BUCHHEIM, G. & WAGENITZ, G. 1965. Proposal to conserve the generic name *Filago* L. (8969, Compositae). *Regnum Veg.* 34: 61-62.



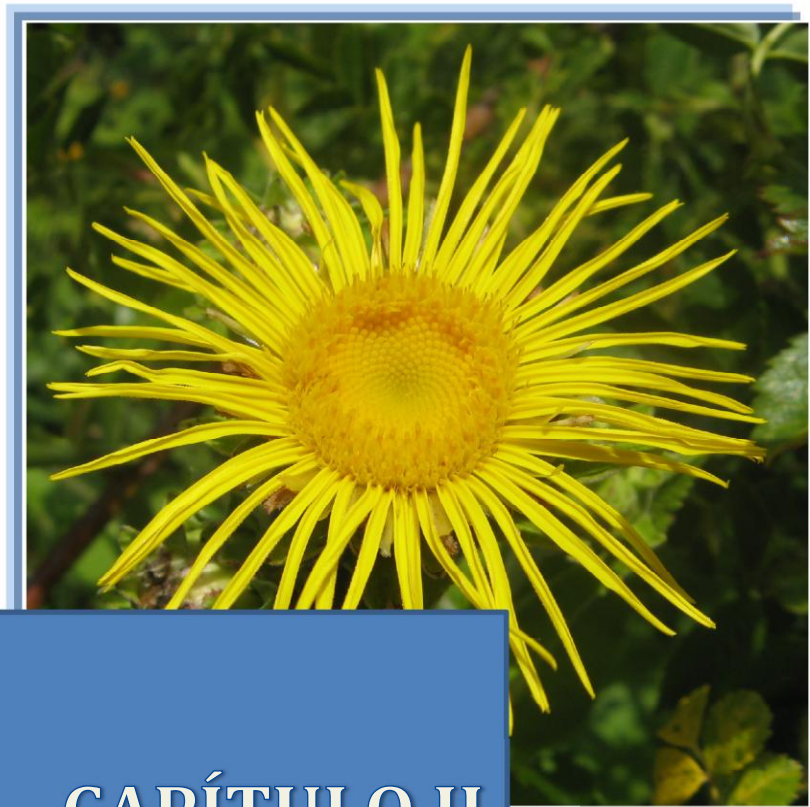
- CASSINI, H.** 1819a. Sixième mémoire sur la famille des Synanthérées, contenant les caractères des tribus. *J. Phys. Chim. Hist. Nat. Arts* 88: 152—163; 189—204.
- CASSINI, H.** 1819b. Examen analytique du genre *Filago* de Lineé. *Bull. Sci. Soc. Philom.* 1819: 141—144.
- CASSINI, H.** 1822. XII.^e Tribu. Les Inulées (Inuleæ). Pp. 560—582 in: Cuvier, F. (ed.) *Dictionnaire des Sciences Naturelles*, vol. XXIII. Le Normant, Paris, France.
- CASTROVIEJO, S. & AL. (COORDS. GENS.).** 1986—. *Flora iberica*. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, Spain.
- CHEN, Y. & ANDERBERG, A.A.** 2011. Tribe Inuleae. Pp. 820—850 in: WU, Z.Y., RAVEN, P.H. & HONG, D.Y. (eds.) *Flora of China*, vol. XX-XXI (Asteraceae). Science Press, Beijing, China & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, USA.
- DE CANDOLLE, A.P.** 1836. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 5. Sumptibus Sciorum Treuttel et Würtz, Parisii, Gallia.
- DE CANDOLLE, A.P.** 1838. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 6. Sumptibus Sciorum Treuttel et Würtz, Parisii, Gallia.
- DUMAN, H. & ANDERBERG, A.A.** 1999. An undescribed species of *Pentanema* Cass. (Asteraceae-Inuleae) from Turkey, with notes on the phylogenetic status of the genus. *Bot. J. Linn. Soc.* 129: 333—338.
- ELDENÄS, P., KÄLLERSJÖ, M. & ANDERBERG, A.A.** 1999. Phylogenetic placement and circumscription of tribes Inuleae s. str. And Plucheeae (Asteraceae): Evidence from sequences of chloroplast gene *ndhF*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13: 50—58.
- ENGLUND, M., PORNPONGRUNGUENG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A.** 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inulinae (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics*. 25: 319—352.
- FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYER, R.J.** 2009. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- GALBANY-CASALS, M., ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GARCÍA-JACAS, N., SUSANNA, A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the “*Filago group*” (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671—1689.
- GORSCHKOVA, S.G.** 1999. *Inula*. Pp. 406—446 in: SCHISCHKIN, B.K. (ed.) *Flora of the URRS*, vol. XXV. Science Publishers Inc., USA.
- GREUTER, W.** 2008. *Evacidium & Filago*. Pp. 218—224 in: GREUTER, W. & VON RAAB-STRAUBE, E. *Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circumediterranean countries*, vol. II Dicotyledones (Compositae). OPTIMA Secretariat, Palermo; Med-Checklist Trust of OPTIMA, Genève; Euro+Med Plantbase Secretariat Berlin
- GRIERSON, A.J.C.** 1975. *Inula* L. Pp. 54—73 in: DAVIS, P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. V. Edinburgh University Press, Edinburgh, United Kingdom.
- HICKEY, M. & KING, C.** 2000. *The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- HITCHCOCK, A.S. & GREEN, M.L.** 1929. *Standard-species of Linnean genera of Phanerogamae (1753-54)* Pp. 111—202 in: RAMSBOTTOM, J., WILMOTT, A.J., SPRAGUE, T.A. & WAKEFIELD, E.M. (eds.) *Nomenclatural proposals by British Botanists*. His Majesty's Stationery Office, London, United Kingdom.



- HOFFMANN, K.A.O.** 1897. *Inula* L. Pp. 201—203 in: ENGLER, H.G.A. & PRANT, K.A.E. (eds.) *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. IV, abt. 4 & 5. Wilhelm Engelmann, Leipzig, Preussen.
- HOLUB, J.** 1975. *Bombycilaena, Cymbolaena, Evax, Filago, Logfia & Micropus*. Pp. 100—106 in: DAVIS, P.H. (ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. V. Edinburgh University Press, Edinburgh, United Kingdom.
- HOLUB, J.** 1976. *Filago, Logfia, Evax, Bombycilaena, Micropus & Evacidium*. Pp. 121—128 in: TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & WEBB, D.A. (eds.) *Flora europaea, volume 4 Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain.
- KIM, K.J. & JANSEN, R.K.** 1995. *ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92: 10379-10383.
- LECOQ, H. & JULLIET, J.** 1831. *Dictionnaire Raisonné des Termes de Botanique et Des Familles Naturelles*. Chez J.B. Baillière, Paris, France.
- LESSING, C.F.** 1832. *Synopsis Generum Compositarum*. Duncker & Jumbolt, Berolini, Borussia.
- LINNAEUS, C.** 1753. *Species Plantarum*. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae, Suecia.
- MERAT, F.V.** 1812. *Nouvelle flore des environs de Paris*. De L'Imprimerie de Crapelét, Paris, France.
- MERXMÜLLER, H., LEINS, P. & ROESSLER, H.** 1977. Inuleae-systematic review. Pp 577—602 in: HEYWOOD, V.H., HARBORNE, J.B. & TURNER, B.L. (eds.) *The biology and chemistry of the Compositae*, vol I. Academic Press, London, United Kingdom.
- NYLINDER, S. & ANDERBERG, A.A.** 2015. Phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Plucheinae. *Taxon*. 64 (1): 110—130.
- POMEL, A.** 1874. *Nouveaux matériaux pour la flore atlantique*. Librairie E. Savy, Paris & Juillet St.-Lager, Alger.
- POMEL, A.** 1888. Études sur des espèces barbaresques des types des *Evax* et des *Filago*. *Bull. Soc. Bot. France* 35: 333—337.
- QASIER, M. & ABID, R.** 2003. *Inula*. Pp 8—28 in: ALI, S.I. & QASIER, M. (eds.) *Flora of Pakistan*, vol. 210, *Asteraceae (II). Inuleae, Plucheeae and Gnaphalieae*. University of Karachi and Missouri Botanical Press.
- RECHINGER, K.H.** 1980. *Inula*. Pp. 77—96 in: GEORGIADOU, E., LACK, H.W., MERXMÜLLER, H., RECHINGER, K.H. & WAGENITZ, G. (eds.) *Flora iranica, Compositae IV—Inuleae*, vol. 145. Akademische Druck und Verlagsanstalt, Graz, Austria.
- REICHENBACH, H.G.** 1854. *Icones florum germanicae et helveticae*, vol. XVI. Sumptibus Ambrosii Abel, Lipsiae, Borussia.
- ROMERO, T. & RICO, E.** 1989. Flora de la cuenca del río Duratón. *Ruizia*. 8: 1—438.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2009. *Inula bifrons* L., *I. conyzae* (Griess.) DC., *I. ensifolia* L., *I. helenium* L. & *I. helvetica* Grauer (Asteraceae). In: Marhold K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 8. *Taxon* 58(4): 1288, E20—21.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2012. Proposal to conserve the name *Inula* (Asteraceae) with a conserved type. *Taxon* 61(6): 1331—1332.
- SANTOS-VICENTE, M.** 2013. *Estudio Biosistemático del género Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. PhD dissertation, University of Salamanca, Salamanca, Spain.



- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2013. *I. heleniodes* DC., *I. langeana* Beck, *I. maletii* Maire, *I. montana* L., *I. oculus-christi* L. & *I. salicina* L. (Asteraceae). In: Marhold K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 16. *Taxon* 62(6): 1360, E15—E16.
- SCHUR, P.J.F.** 1885. *Enumeratio plantarum Transsilvaniae*. Sumptibus C. Graeser, Vindobonae, Austria.
- TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE, D.H., WALTERS, S.M. & WEBB, D.A.** 1976. *Flora europaea, volume 4 Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain.
- YONG, L.** 1979. *Inula* L. *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* 75: 248—281.
- WAGENITZ, G.** 1969. Abgrenzung und Gliederung der Gattung *Filago* L. *s.l.* (Compositae-Inuleae). *Willdenowia* 5: 395—444.
- WILLKOMM, M.** 1870a. Trib. III. Inuleae. Pp. 39—46 in: WILLKOMM, M. & LANGE, J. (eds.) *Prodromus florum hispanicae*, vol. II. Sumptibus E. Schweizerbart (E. Koch), Stuttgartiae, Germania.
- WILLKOMM, M.** 1870b. Trib. VII. Gnaphalioideae. Pp. 51—67 in: WILLKOMM, M. & LANGE, J. (eds.) *Prodromus florum hispanicae*, vol. II. Sumptibus E. Schweizerbart (E. Koch), Stuttgartiae, Germania.



CAPÍTULO II

Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*.



Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*.

[*Taxon*, 2018, 67]

David Gutiérrez-Larruscain^{1,2}, María Santos-Vicente¹, Arne A. Anderberg³, Enrique Rico¹ & María Montserrat Martínez-Ortega^{1,2}

¹ University of Salamanca, Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Licenciado Méndez Nieto Ave., E-37007 Salamanca, Spain.

² University of Salamanca, Biobanco de ADN Vegetal, Edificio I+D+i, Espejo st., E-37007 Salamanca, Spain.

³ Swedish Museum of Natural History, Department of Botany, P.O. Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden.

Author for correspondence: David Gutiérrez-Larruscain, larruscain@usal.es

Resumen.— El *Inula complex* (Asteraceae, Inulinae) es un grupo monofilético formado por ocho géneros distribuidos en Eurasia y África: *Amblyocarpum*, *Carpesium*, *Chrysophthalmum*, *Inula*, *Pentanema*, *Rhanteriopsis*, *Telekia*, y *Varthemia*. Se ha realizado un análisis filogenético a partir de 294 nuevas secuencias de ADN (región ITS del ADN ribosómico nuclear y tres regiones espaciadoras del ADN plastidial: *rps16-trnQ*, *rpl32-trnL* and *ndhF-trnL*) con el objetivo de explorar la circunscripción de dichos géneros. Se concluye que tanto *Inula* como *Pentanema* son parafiléticos, y que ha de revisarse sus delimitaciones genéricas dentro del *Inula complex*. Sobre la base de los resultados obtenidos, y de acuerdo con datos morfológicos y cariológicos, se propone la mejor solución para este problema taxonómico, una nueva circunscripción para *Pentanema*. Se incluye una descripción mejorada del género y 24 nuevas combinaciones para las antiguas especies de *Inula*. Se propone el uso de los nombres *Codonocephalum*, *Monactinocephalus* y *Vicoa* para preservar la monofilia de los géneros incluidos en el *Inula complex*. Se aportan y discuten datos acerca de incongruencias detectadas entre el ADNrn y el ADNcp.



Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*.

[*Taxon*, 2018, 67]

David Gutiérrez-Larruscain^{1,2}, María Santos-Vicente¹, Arne A. Anderberg³, Enrique Rico¹ & María Montserrat Martínez-Ortega^{1,2}.

¹ University of Salamanca, Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Licenciado Méndez Nieto Ave., E-37007 Salamanca, Spain.

² University of Salamanca, Biobanco de ADN Vegetal, Edificio I+D+i, Espejo st., E-37007 Salamanca, Spain.

³ Swedish Museum of Natural History, Department of Botany, P.O. Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden.

Author for correspondence: David Gutiérrez-Larruscain, larruscain@usal.es

Abstract.—The *Inula* complex (Asteraceae, Inulinae) is a monophyletic group which comprises eight genera distributed in Eurasia and Africa: *Amblyocarpum*, *Carpesium*, *Chrysophthalmum*, *Inula*, *Pentanema*, *Rhanteriopsis*, *Telekia*, and *Varthemia*. With the aim to shed light on the circumscription of these genera, phylogenetic analyses were performed with 294 new DNA sequences (ITS region from nrDNA and three plastid spacers from cpDNA: *rps16-trnQ*, *rpl32-trnL* and *ndhF-trnL*). It is concluded that both *Inula* and *Pentanema* are paraphyletic and that generic delimitations within the *Inula* complex need to be revised. Based on the results of the analyses, together with morphological and karyological data, we argue that the best solution is a new circumscription of the genus *Pentanema* including an amended description and 24 new combinations of former *Inula* species. Resurrection of the names *Codonocephalum*, *Monactinocephalus* and *Vicoa* is proposed to preserve the monophyly of the genera included in the *Inula* complex. Incongruences between nrDNA and cpDNA are documented and discussed.

Keywords.—*Inula*; *Pentanema*; molecular phylogeny; morphology; taxonomy; Inuleae.

Running title.—Recircumscription of *Pentanema*

2.1. INTRODUCTION

It is currently accepted that the tribe Inuleae is composed of two major lineages: the Inulinae and the Plucheinae both recognized at the taxonomic level of subtribe by Anderberg & Eldenäs (2007). The species included within subtribe Inulinae have a large oxalate crystal in each cell of the cypsela epidermis, which is a synapomorphic trait for the Inuleae-Inulinae (Eldenäs *et al.*, 1999; Anderberg *et al.*, 2005). The most comprehensive investigation of the relationships of the species included in the Inuleae-Inulinae by Englund *et al.* (2009) demonstrated that the circumscription of most genera is problematic, and that many of them—including *Inula* L., the main focus of this study—are paraphyletic (see also Nylinder & Anderberg, 2015). *Inula* is composed of ca. 100 species (Anderberg, 2009) distributed across Europe, Africa and Asia and it was recovered in a morphologically diverse clade called the *Inula* complex (*i.e.*, Clade C, Englund *et al.*, 2009), together with the genera *Amblyocarpum* Fisch. & C.A. Mey., *Carpesium* L., *Chrysophthalmum* Sch. Bip., *Pentanema* Cass., *Rhanteriopsis* Rauschert, *Telekia* Baumg., and *Varthemia* DC. These related genera, all smaller than *Inula*, are distributed mainly in the



Middle East and in Central Asia. There are some characters that allow distinguishing the species included in the complex, which are mainly type of capitulum (heterogamous radiate, heterogamous disciform, or homogamous discoid; terminology hereafter *sensu* Roque *et al.*, 2009), presence or absence of receptacular scales and resiniferous canals in the stem, and the morphology of the cypsela. In contrast, there is not a single morphological character allowing unequivocal diagnosis of the *Inula* complex; this heterogeneity among genera regarding morphological traits is exemplified in Tab. I.

Taxon	Resiniferous canals	Receptacular scales	Cypsela morphology	Type of capitulum
<i>Amblyocarpum inuloides</i>	Absent	Epaleate	Slightly compressed, upper part swollen and truncate; glandular; pappus absent	Radiate
<i>Carpesium cernuum</i>	Absent	Epaleate	Fusiform, beaked; glandular on beak and at base; pappus absent	Disciform
<i>Chrysophthalmum dichotomum</i>	Absent	Paleate	Tetragonous; minutely pubescent, especially near apex; pappus absent	Discoid
<i>Inula helenium</i>	Present	Epaleate	Tetragonous; glabrous; pappus connate at the base, ca. 50-80 barbellate bristles	Radiate
<i>Inula hirta</i>	Absent	Epaleate	Cylindrical; glabrous; pappus slightly connate, ca.30 barbellate bristles	Radiate
<i>Inula montana</i>	Absent	Epaleate	Oblong; appressed hairy; ca. 30 barbellate pappus bristles	Radiate
<i>Pentanema divaricatum</i>	Absent	Epaleate	Oblong; appressed hairy; ca. 5 pappus bristles	Radiate
<i>Rhanterioopsis lanuginosa</i>	Absent	Paleate	Tetragonous; apically strigose-hispid; 2-3 long serrulate pappus bristles.	Radiate
<i>Telekia speciosa</i>	Present	Paleate	Cylindrical; glabrous; pappus formed by a rim of minute scales or absent	Radiate
<i>Varthemia persica</i>	Absent	Epaleate	Slightly compressed or almost terate; short appressed hairs; ca. 20 barbellated pappus bristles	Discoid

Tab. I. Morphological character states of some representative species of the genera belonging to the "*Inula*-complex" (Englund *et al.*, 2009).

Some of the species of *Inula* are of economic interest as ornamental garden plants, e.g., *I. britannica* L., *I. ensifolia* L., *I. helenium* L., *I. oculus-christi* L., and *I. orientalis* Lam. The genus is also well-known because of the presence of inulin, an oligosaccharide of high bromatological and therapeutic interest. This compound can be found in almost the entire Asteraceae, and was named after *Inula* because it was first obtained from rhizomes of *I. royleana* DC. (Anderberg, 2009). In fact, the type species of *Inula* and Inuleae is *I. helenium* (Anderberg, 1993), the Elecampane, a popular medicinal plant particularly well-known in rural communities.

The circumscription of *Inula* has changed from the initial description of nine species by Linnaeus (1753) to the present broad genus concept that comprises ca. 100 species. Some of the species currently included in *Inula* were described as part of other genera (e.g. *Conyza* L., *Codonocephalum* Fenzl), while others originally described under *Inula* have been transferred to various other genera [e.g. *Pulicaria dysenterica* (L.) Gaertn., *Pulicaria odora* (L.) Rchb.]. Beck (1882) in the most comprehensive monograph of the European



species of *Inula* recognized 21 species and arranged them in four sections based on cypselas shape and pappus insertion. Two of these sections today are commonly accepted as independent genera: *Dittrichia* Greuter (*Inula* sect. *Cupularia* Gren. & Godr.) and *Limbarda* Adans. [*Inula* sect. *Limbarda* (Adans.) DC.], which have been found to belong to other groups outside of the *Inula* complex (Englund *et al.*, 2009). The remaining two sections accepted by Beck were *Inula* sect. *Enula* (Boemer) Duby, that comprised most of the European species of *Inula*, and *Inula* sect. *Corvisartia* (Mérat) DC., which included only *I. helenium*. The genus *Corvisartia* Mérat (1812) was split from *Inula* to accommodate *I. helenium*, based on the fact that the involucral bracts are ovate-trapezoidal in contrast to the linear to ovate-lanceolate bracts present in the remaining species of *Inula*, and also considering the much larger plant size of *I. helenium*. A few authors (Grenier & Godron, 1850; Reichenbach, 1863; Schur, 1866) followed the proposal by Mérat (1812) supporting the taxonomic independence of *Corvisartia* from *Inula*. Molecular analyses have demonstrated that *I. helenium* is phylogenetically closer to other genera of the *Inula* complex such as *Carpesium* or *Telekia*, than to the majority of the species included in *Inula* (Englund *et al.*, 2009). Santos-Vicente *et al.*, (2012) considered that *I. helenium* and its sister species (*I.* sect. *Corvisartia sensu* Santos-Vicente includes *I. helenium*, *Inula koeltzii* R. Dawar & Qasir, *I. magnifica* Lipsky, *I. racemosa* Hook.f. and *I. royleana* DC) could be segregated from the remaining species of *Inula* and transferred to *Corvisartia*. With the aim of limiting the number of nomenclatural changes these authors proposed the name *Inula* for conservation (with a conserved type). However, this proposal was not recommended by the IAPT Committee (Applequist, 2013) considering that transferring the well-known medicinal species *I. helenium* to the unfamiliar genus *Corvisartia* would cause confusion particularly among non-specialists.

Pentanema is a small paraphyletic genus (ca. 20 species) distributed in southern to southwestern Asia and in East Africa (Duman & Anderberg, 1999; Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Anderberg, 2009; Englund *et al.*, 2009; Nylinder & Anderberg, 2015). It was described by Cassini (1818), with *P. divaricatum* Cass. as type species, and after *Inula* it is the second largest genus in the *Inula* complex. A few species, *i.e.* *P. cernuum* (Dalzell) Ling, *P. indicum* (L.) Ling, *P. ligneum* Mesfin have been shown to be closely related to the *Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade (Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Englund *et al.*, 2009; Nylinder & Anderberg, 2015).

In this study, we present a phylogeny of the species included in the *Inula* complex (Englund *et al.*, 2009) with particular emphasis on the European species of *Inula*. For this



purpose, we sequenced the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA (nrDNA) and three regions of the maternally inherited plastid DNA. To place our results in a wider phylogenetic framework, we completed the newly generated dataset with previously published ITS sequences of species belonging to the *Pulicaria* complex and the “*Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade” (Englund *et al.*, 2009). We also checked the micromorphology of the cypsela in some European species of *Inula* due to it has characters considered relevant in the classification of the group. The aims of this study are to (1) investigate the phylogenetic position of the European species of *Inula* within the *Inula* complex and explore which evolutionary processes are involved in their diversification, (2) investigate monophyletic groups within *Inula* and how *Inula* should be circumscribed in the light of the most recent phylogenetic data and, (3) evaluate and propose the necessary nomenclatural changes.

2.2. MATERIAL AND METHODS

Plant material.— Specimens deposited in 30 herbaria were investigated. Two datasets were generated to study the evolutionary relationships within the *Inula* complex. With dataset 1, our aim was to elucidate the placement of the European species of *Inula* within the *Inula* complex. For this objective, we sequenced the ITS region of nrDNA for 69 accessions (31 taxa) and obtained 30 additional sequences (28 additional taxa) from GenBank. The sampling covered ca. 25% of the species currently accepted under *Inula* (*i.e.*, all European and North African species, plus *I. orientalis*, *I. auriculata* Wall., *I. grandis* Schrenk, *I. peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) Korovin and *I. mariae* Bordz. from Asia, and *I. confertiflora* A. Rich., *I. shirensis* Oliv. and *I. paniculata* (Klatt) Burt Davy as African representatives), as well as most species of the related genera from the complex [*i.e.*, *Carpesium* was represented by eight species (25 species in the genus); *Chrysophthalmum* by three species (five species in the genus); *Rhanteriopsis* by two species (four species in the genus), plus *Telekia* and *Varthemia*, which are monospecific genera], except for *Amblyocarpum inuloides* Fisch. & C.A. Mey., a monospecific genus from the Caspian Sea area. A few species were included as representatives of the *Pulicaria* complex and the “*Caesulia-Blumea* clade”. Finally, *Stenachaenium campestre* Baker which belongs to Inuleae-Plucheinae was used as outgroup taxon to root the tree.

In the case of dataset 2, we analyzed the ITS region plus three plastid DNA regions (trnQ-rps16, trnL-rpl32 and rpl32-ndhF), corresponding to 73 representative specimens of 34 species of the *Inula* complex included in dataset 1. Our aim was to compare possibly incongruent gene tree topologies obtained from plastid and nuclear DNA markers. In this



case *Pulicaria dysenterica* from the *Pulicaria* complex and *Pentanema indicum*, which earlier had been found to belong in the “*Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade” (Englund *et al.*, 2009), was used as outgroup.

Leaf material was also collected in the field between 2004 and 2015 and stored in silica gel. Additional DNA extractions were made from herbarium material whenever necessary. Voucher information, the source of material and GenBank accession numbers are given in Appendix 1.

DNA extraction and amplification.— DNA extraction from dried silica-gel material was done following CTAB protocol (Doyle & Doyle, 1987) with slight modifications (after centrifugation the DNA pellet was washed with 70% ethanol, dried at 37°C and resuspended in TE buffer). The amount of leaf material used was 20-25 mg. For herbarium material the DNEasy plant DNA Extraction kit from Qiagen (Valencia, CA, USA) was used and the manufacturer’s instructions were followed.

The polymerase reaction chain (PCR) was performed in an Eppendorf thermocycler (Eppendorf Mastercycler ProS). The ITS region was amplified with the primers LEU1 (Vargas *et al.*, 1998) and ITS4 (White *et al.*, 1990) under the following PCR conditions: 2:30 min. of preheating at 94°C followed by 40 cycles of 30 s. at 94°C denaturation, 30 s. at 53°C annealing and 1:15 min. at 72°C extension, with a final step of 10 min. at 72°C and 4°C holding. The PCR mix used for the ITS region included: 5 µl of 5X Green GoTaq buffer, 0.5 µl of dNTP 10mM (Fermentas), 0.83 µl of primer F and R 10mM, 0.17 µl of Go Taq Polimerasa (Promega), 1.25 µl of DMSO (Fisher Scientific), 0.25 µl of BSA 1mg/ml (New England Biolabs), 14.17 µl of ddH₂O and 2 µl of DNA (18 ng/µl) in a reaction final volume of 25 µl. The products of the amplifications were checked in a TBE 1X 1% agarose gel, with 0.01% SyberSafe. All PCR products were purified with ExoSap-IT (Affymetrix, OH) exonuclease and sent to the European section of Macrogen Inc. for Sanger sequencing in both directions.

For plastid non-coding regions we used the following PCR master-mix per sample: 5 µl of 5x Green GoTaq buffer (Promega), 0.5 µl of dNTPs 10mM (Fermentas), 0.83 µl of each primer 10mM (MWG Operon), 0.17 µl of Go Taq Polimerasa (Promega), 15.17 µl of ddH₂O and 2 µl of DNA dilution at 18.2 ng/µl with a final volume of 25 µl. To amplify the *trnQ-rps16* region the primers *rps16x1* and *trnQ^{UUG}* of Shaw *et al.* (2007) were used, with the following PCR conditions: 2 min. of preheating at 95°C, followed of 35 cycles of 30 s. at 95°C denaturation, 30 s. at 55°C annealing and 80 s. at 72°C extension with a final extension of 5 min. at 72°C and 4°C holding. The *rpl32-trnL* region was amplified with the primers *rpl32-F* and *trnL^{UAG}* Shaw *et al.*, (2007) with the same conditions indicated by



Shaw *et al.*, (2007) with minor modifications: initial preheating at 85°C for 5 min., followed by 30 cycles of denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 65°C for 4 min. with a ramp of +0.3°/s to 65°C and extension at 65°C for 5 min. followed by a final extension of 5 min. at 65°C and 4° holding. The *ndhF-rpl32* region was amplified with the primers *ndhF* and *rpl32-R* from Shaw *et al.*, (2007) under the following PRC conditions: initial preheating for 5 min. at 80°C, 10 cycles of denaturation at 95°C for 1 min., annealing at 50°C for 1 min. with a ramp of 3°/s to 65°C temperature of extension for 4 min. followed by 20 cycles with an annealing temperature of 48°C, plus other 20 cycles at 46°C annealing and a final extension of 5 min. at 65°C and 4°C holding.

Alignment.— Sequences were edited in Geneious v5.5.9 (Biomatters Ltd., 2005-2012) and aligned using the algorithm MUSCLE. Each region was manually checked. Ambiguous regions were excluded from the alignment using the software Gblocks 0.91b (Castresana, 2000; Talavera & Castresana, 2007) under the following relaxed conditions: Minimum length of a block “5”, Allowed Gap positions “With half”, Minimum number of sequences for a flank position “40” and the maximum number of contiguous non conserved positions “10”. These parameters allowed the presence of some informative gaps in the alignments. Indels were coded according to the “simple coding” method of Simmons & Ochoterena (2000) as implemented in SeqState v.1.4.1 (Müller, 2005). They were added to the data as a binary matrix and consequently gaps were treated as missing data.

Analysis of the secondary structure.— Secondary structure of the ribosomal ITS sequences were examined to detect the presence of pseudogenes in the dataset. The analysis was carried out using RNAstructure, version 5.7 (Reuter & Matthers, 2010), looking for the functional presence of the hairpin conserved motif GCCRY-(4n to 7n)-GYGYCAAGAA (Liu & Schardl, 1994).

Test of recombination.— Recombination between nucleotide sequences can occur after hybridization or as an artifact, during PCR amplification (Lemey & Posada, 2009). Evidence for recombination in the ITS sequences was searched for using RDP4 v.4.43 (Martin *et al.*, 2010) using *P*-values set to 0.05 under the tests RDP, GENECONV and MaxChi. The multiple comparison corrections were performed with the tests BootsScan and SiScan.

Phylogenetic reconstruction.— The best available evolutionary model was calculated for each marker and dataset with JModeltest 2 v2.1.4 (Darriba *et al.*, 2012) under the Akaike information criterion (AIC) (Akaike, 1973) (Tab. 2). For dataset 1, Bayesian (BA),



Maximum Likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP) analyses were carried out. In the case of dataset 2, the three plastid makers were concatenated and only BA was performed. Since topological incongruences between the nrDNA and cpDNA trees were detected, analyses using a plastid and nuclear concatenated matrix were not performed.

	Dataset 1		Dataset 2		
	ITS	ITS	trnQ-rps16	rpl23-trnL	ndhF-rpl32
No. of individuals	100	75	75	75	75
Sequence length (bp.)	753-668	546-589	764-740	817-776	667-612
Sequence aligned length (bp.)	719	589	764	817	667
No. of coded indels	75	15	12	22	20
Identical sites	12.50%	28.50%	81.30%	69.40%	71.80%
No. of parsimony informative characters	272				
Model of molecular evolution	SYM+I+G	012310+I+G	001001+G+F	012010+G+F	001001+G+F

Tab. II. Main sequence characteristics, number of parsimony informative characters of dataset 1 and nucleotide substitution models for each marker.

The Bayesian analyses were performed with MrBayes v3.2.0 (Ronquist *et al.*, 2012). MCMCMC were carried out for dataset 1 and dataset 2 in two independent runs. Each run was performed with four chains (one cold and three hot), starting with random trees, computing 20 million generations and sampling each 2000th tree. After discarding a burn-in of 4000 trees (20 % of all sampled trees) from each run, a majority-rule consensus tree was calculated. Traces were visually inspected in Tracer v1.6 (Rambaut *et al.*, 2014) to ensure that the effective sample sizes (ESSs) of all parameters were >200, as recommended by the authors, and to check the convergence of parameter estimates across runs. Nodes with Bayesian posterior probabilities (BPP) ≥ 0.95 were considered to be strongly or significantly supported (Huelsenbeck & Rannala, 2004), however we have collapsed branches receiving < 0.90 BPP.

ML analysis was carried out using PhyML (Guindon *et al.*, 2010) as implemented in ATGC Montpellier bioinformatics platform (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>). Tree improvement was performed under the SPR (Subtree Pruning Regrafting) and NNI (Nearest Neighbor Interchange) algorithms, and branch support was calculated with the approximate Likelihood Ratio Test aLRT SH-like method (Anisimova & Gascuel, 2006). Branches receiving <0.90 support were collapsed.

MP analysis was carried out using TNT v1.5 (Goloboff *et al.*, 2008). Traditional search option was applied in an initial run of 20000 random addition sequence RAS replicates,



and using tree bisection reconnection (TBR) branch-swapping saving 10 trees per replicate. A majority rule consensus tree was obtained from 264 best score trees, and Jackknife (JK) (Kopuchian & Ramírez, 2010) support values were calculated with 2000 RAS replicates using TBR branch-swapping. Branches receiving JK values <70% were collapsed. Consistency index (CI) and retention index (RI) were obtained using PAUP*v.4.0b10 (Swofford, 2002).

Additionally, a Consensus Network was performed with SplitsTree4 (Huson & Bryant, 2006) in order to summarize the information provided by the ITS and cpDNA markers. A Consensus Network is a useful tool to visualize information provided by incongruent markers, and to detect the main spots of incongruence among tree topologies. The method requires that the input trees are inferred from the same dataset. In our case, the Consensus Network (Fig. III) was built using the Bayesian topologies obtained from the independent analyses of the nuclear and plastid matrices of dataset 2. Branches of the input topologies with BPP support <95 were collapsed in order to keep the statistical strength of the analysis.

Names provided at tip branches in the phylogenetic reconstructions refer to the classification and nomenclatural treatment accepted here, followed (in parentheses) by the traditional names

Microphotography with scanning electron microscopy (SEM).— Mature cypselae of *Inula helenium*, *I. helenioides* DC., *I. montana* L. and *I. salicina* L. were collected in 2016 and preserved in FAA (Formaldehyde- Acetic Acid- Alcohol). Cypselas of *Pentanema divaricatum* and *Varthemia persica* DC. were sampled from herbarium sheets and rehydrated with water. Details about plant material used for SEM are available in appendix 2. Samples were dehydrated through an ethanol series (30, 50, 70, 80, 90, 95, 98, 100 and 100% again). Critical point drying was done with a CPD7501 drier (Polarum Quorum Technologies) in a CO₂ atmosphere at 38°C and 1.500 PSI (pound force/square inch). The samples were then mounted on stubs and coated with gold using a BALZER SCD040 ion sputter. Samples were observed with a HITACHI S-3000N scanning electron microscope.

2.3. RESULTS

Sequence characteristics.— A total of 294 sequences were newly generated for this study, 69 of ITS and 225 of plastid markers. Tab. II summarizes alignment characteristics



and statistics for all markers and datasets. Higher nucleotide variation rates were detected in the ITS region than in the plastid regions. All ITS sequences had the characteristic conserved hairpin structure in the motif of Liu & Schardl (1994). GC content in ITS1 varied from 31% to 55.2% (average 47.1%), while in ITS2 it varied between 36.3% and 54.2% (average 45.6%). The average between the difference of the GC content values in ITS1 and ITS2 for each sample was 1.48 (more details in Tab. II). No recombination among the tested sequences was found using RDP4.

Major clades in the ITS analysis.— The Bayesian, ML and MP analyses of dataset 1 resulted in highly congruent topologies. Therefore only the Bayesian topology is shown here (Fig. I) with, ML and MP support values added. Similarly, only the ITS tree of dataset 1 is discussed, as the ITS analysis of dataset 2 (Fig. II, left) does not differ in topology and has only slight differences in PP values.

Subtribe Inulinae (BPP=100, Alrt=100, JK=100), the *Pulicaria* complex (BPP=100, Alrt=97, JK=—), and the *Inula* complex (BPP=100, Alrt=—, JK=—) are recovered as monophyletic groups, at least in the BA, which is in congruence with former studies (Eldenäs *et al.*, 1998; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*; 2009). *Duhaldea cappa*, *Pentanema indicum*, *Caesulia axillaris* Roxb. and *Blumea balsamifera* DC. represent the early branching “*Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade” (BPP=100, Alrt=97, JK=99). This clade is in a sister position to a trichotomy formed by the *Pulicaria* complex, the *Inula* complex and one accession of *Buphthalmum salicifolium* L. *Pulicaria* is recovered as polyphyletic, which is in agreement with former results by Anderberg *et al.* (2005) and Englund *et al.*, (2009). Different species of *Pulicaria* are scattered among other genera represented in our study by *Pallenis (Asteriscus) maritima* (L.) Greuter, *Pallenis spinosa* (L.) Cass., *Rhanterium epapposum* Oliv., *Limbarda crithmoides* (L.) Dumort., *Jasonia tuberosa* (L.) DC., *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter, and *Iphiona scabra* DC. ex Decne.

In the *Inula* complex, four different clades can be distinguished. Clade A (BPP=100, aLRT=—, JK=—) is poorly supported as sister to the rest of the complex (BPP=90, aLRT=—, JK=—) and includes *I. helenium* plus four other species of *Inula* [*i.e.*, *I. grandis*, *I. shirensis*, *I. paniculata* and *I. peacockiana*]. *Inula paniculata* and *I. shirensis* from southern and central Africa are recovered as one subclade (BPP=100, aLRT=90, JK=98) that is placed in a trichotomy within clade A. *Inula grandis* and *I. peacockiana*, distributed in Asia with Iran as a center of distribution, are recovered together in a sister position to *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg. (BPP=90, aLRT=— JK=—). Finally, the last subclade of the trichotomy (BPP=100, aLRT=97 JK=96) is formed by *I. helenium*.

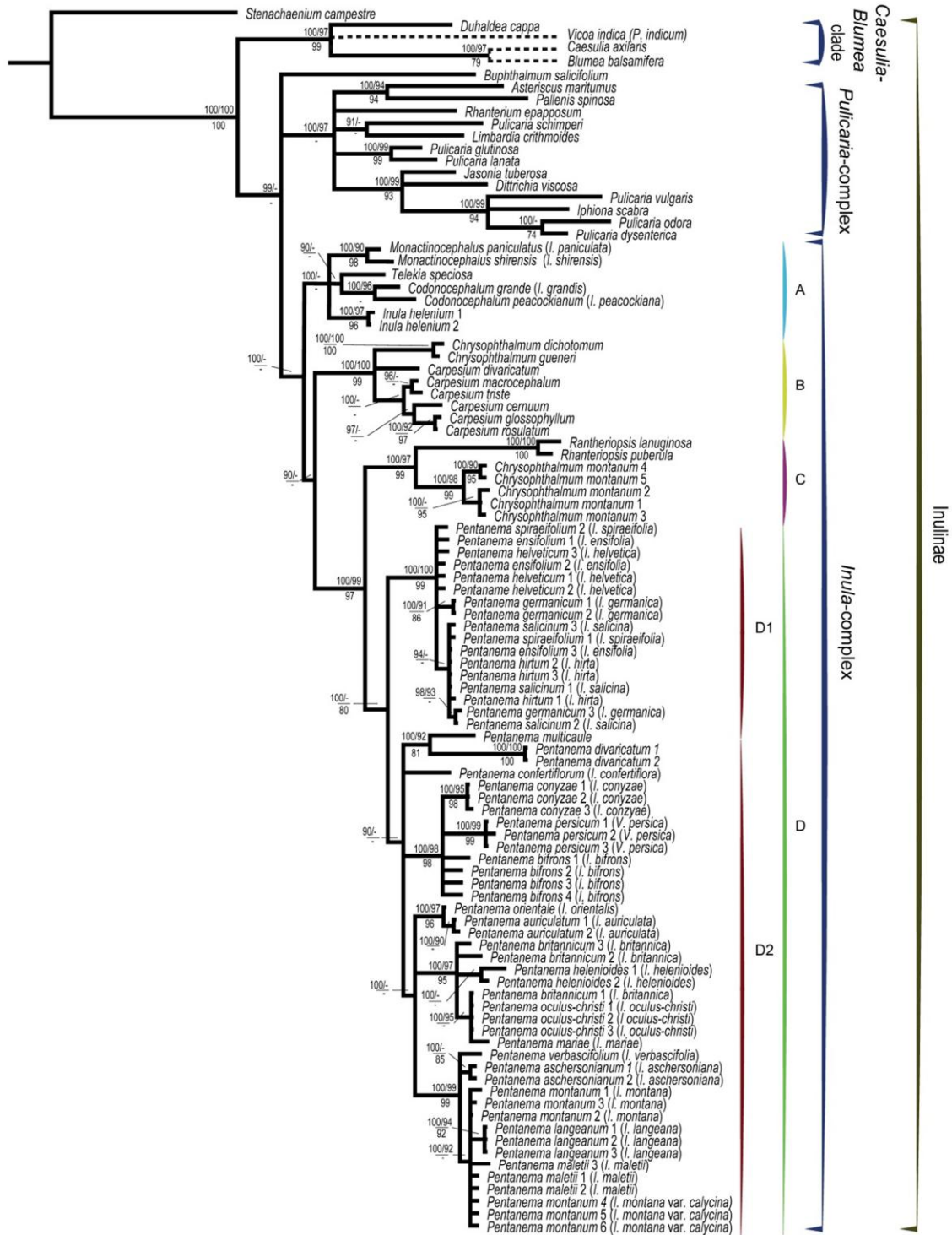


Fig. 1. Phylogenetic consensus tree obtained from the BA of the ITS nrDNA region of the dataset 1. Name of species at branch tips follow the newly proposed nomenclature. Branches under 90 BPP have been collapsed. Support values from the MP and ML analyses are included. Numbers above branches: left: BPP support values; right: aLRT support values. Number below branches: BS support values. Dashed lines represent shortened branches.

Clade B (BPP=100, aLRT=100, JK=99) includes two species of *Chrysophthalmum* from western Turkey (i.e., *Ch. gueneri* Aytac & Anderb. and *Ch. dichotomum* Boiss. & Heldr.),



which are recovered in an unresolved position with respect to six species of *Carpesium* (i.e., *C. divaricatum* Siebold & Zucc., *C. macrocephalum* Franch. & Sav., *C. triste* Maxim., *C. cernuum* L., *C. glossophyllum* Maxim., and *C. rosulatum* Miq.).

A sister-group relationship between Clade B and Clades C+D receives poor Bayesian support (BPP=90, Alrt=—, JK=—). Clades C and D are well supported as sister groups (BPP=100, aLRT=99, JK=97). Clade C (BPP=100, aLRT=97, JK=99) contains two species of *Rhanteriopsis* [i.e., *R. puberula* (Boiss. & Hausskn.) Rauschert and *R. lanuginosa* (DC.) Rauschert] clearly recovered as monophyletic (*Rhanteriopsis* comprises four species) and five accessions of *Chysophthalmum montanum* (DC.) Boiss.

Finally, clade D (BPP=100, aLRT=—, JK=80) contains the European species of *Inula* plus other Asian and African taxa such as *Pentanema multicaule* Boiss., *P. divaricatum*, *Varthemia persica*, *Inula auriculata*, *I. mariae*, *I. orientalis*, *I. confertiflora* and *I. maletii* Maire. Clade D comprises two sister subclades. Subclade D1 (BPP=100, aLRT=100, JK=99) contains the diploid species *Inula spiraeifolia* L., *I. ensifolia* L., *I. helvetica* Weber, *I. germanica* L., *I. salicina* and *I. hirta* L., a group of species already recognized as closely related to each other by several authors, even based only on morphological characters (Beck, 1882; Anderberg, 1991; Englund *et al.*, 2009). The poorly supported subclade D2 (BPP=90, aLRT=—, JK=—) is composed mainly of polyploid taxa arranged in four groups. The first (BPP=100, aLRT=92, JK=81) includes two species of *Pentanema* (i.e., *P. multicaule* and *P. divaricatum*). Thus, not only the genus is recovered as paraphyletic in agreement with previous studies (Englund *et al.*, 2009), but also the currently listed type species of *Pentanema* appears nested within the species of *Inula* that compose subclade D2. The second group in this polytomy is one accession of *I. confertiflora*, a species from Ethiopia. The third (BPP=100, aLRT=98 JK=98) is a subclade containing specimens of *I. conyzae* (Griess.) DC., *I. bifrons* L. and *V. persica*, the latter a monospecific genus distributed in the Middle East, also recovered close to *I. conyzae* and *I. bifrons* [from subsection *Breviligulatae*, Beck (1882)] by Englund *et al.* (2009). Last, the fourth group (BPP=100, aLRT=—, JK=—) within subclade D2 is composed by three minor clades: The first one (BPP=100, aLRT=97, JK=96) includes *I. orientalis*, which is widespread in Asia, plus *I. auriculata*, a species restricted to the Caucasus region; the second one (BPP=100, aLRT=97, JK=95) comprises *I. britannica*, *I. helenioides*, *I. oculus-christi* and *I. mariae*, and the last minor clade (BPP=100, aLRT=99, JK=99) is composed of *Inula verbascifolia* Hausskn., and *I. aschersoniana* Janka from the Balkan Peninsula plus *I. montana*, *I. langeana* Beck and *I. maletii*, which are distributed throughout the western Mediterranean region.



Incongruence between nrDNA and cpDNA gene-trees.— The incongruent phylogenetic signal is shown in Fig. II, by comparing the topologies obtained from the Bayesian analyses of the ITS and the three plastid regions of dataset 2. In Fig. II the branches corresponding to the same species have been collapsed, in order to represent a single tip per species whenever possible. Only the main differences between the two topologies are described here.

In the analysis of ITS sequences, *Inula grandis*, *I. helenium* and *Telekia speciosa* are recovered in a single clade, while in the cpDNA topology, *T. speciosa* and *I. grandis* are successive sisters to the species of *Carpesium*. In the cpDNA tree *I. helenium* is placed in an unresolved position with respect to *Carpesium*+*Telekia*+*I. grandis* clade and the monophyletic group comprising *Chrysophthalmum dichotomum* and *Ch. gueneri*. *Rhanteriopsis lanuginosa* and *R. puberula* appeared in an unresolved position within subclade D in the cpDNA tree, but are members of clade C in the ITS reconstruction. Moreover, *Ch. montanum* and *I. auriculata* are recovered in the ITS topology as monophyletic, in contrast with the plastid topology (Fig. II). Neither *I. britannica* nor *I. helenioides* are recovered as monophyletic in the cpDNA reconstruction. Finally, *I. conyzae*, a species that has been traditionally related to *I. bifrons* (Beck, 1882; Anderberg, 1991), which is confirmed by our ITS data, appears as closely related to *I. langeana*, *I. maletii* and *I. verbascifolia* in the cpDNA topology.

The Consensus Network (Fig. III) obtained from the ITS and plastid DNA trees of dataset 2 reveals that the phylogenetic history of the *Inula* complex involved reticulate evolution to some extent, mainly limited to clades C and D. The network shows three main groups. The first includes clades A and B, which reflects the incongruent phylogenetic signal between the two markers in these clades. The second group corresponds to clade C and the third to clade D.

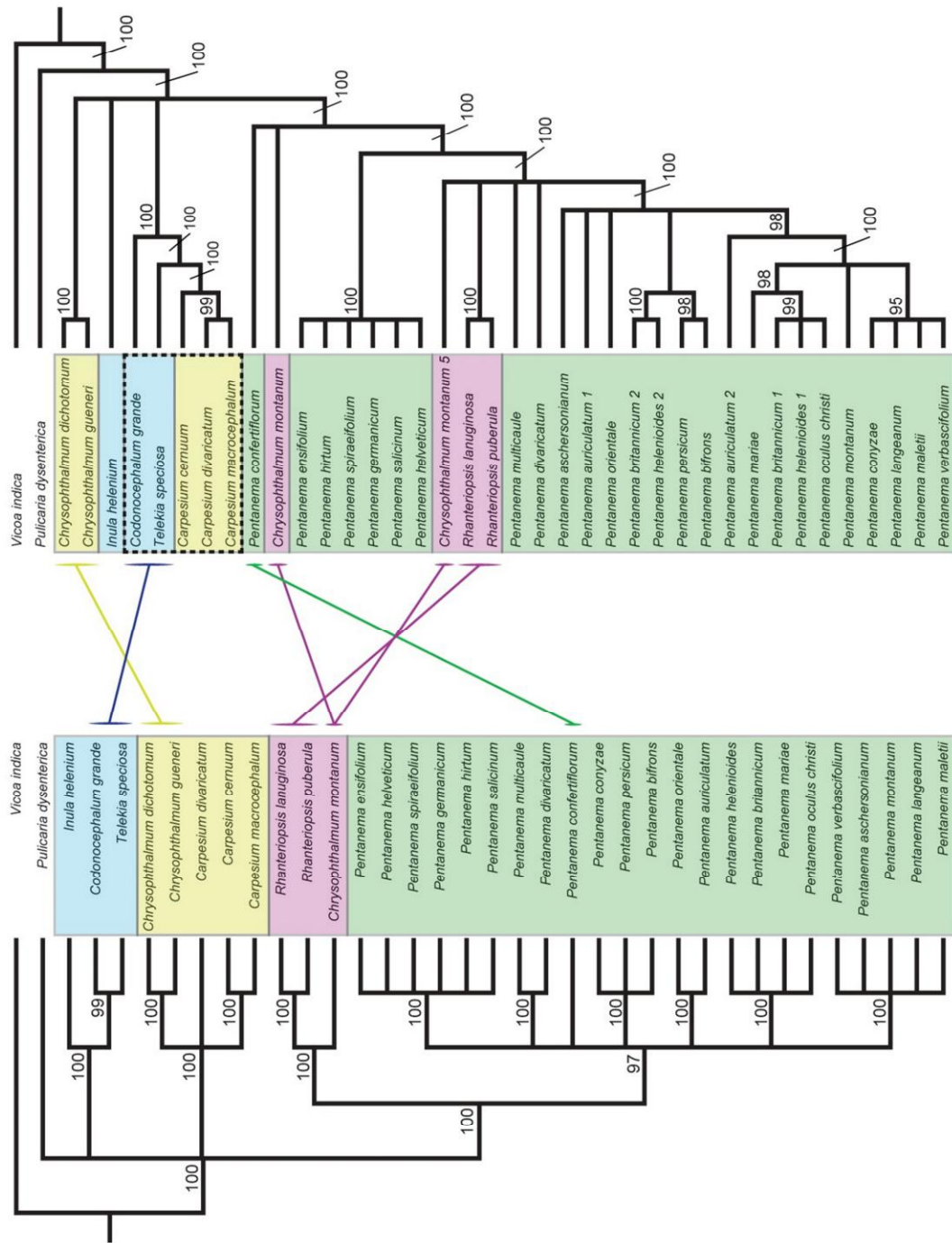


Fig. II. Phylogenetic consensus trees obtained from the analysis of dataset 2. Left topology obtained from the BA of the ITS nrDNA regions. Right topology obtained from the BA of concatenated plastid markers. Branches corresponding to the same species have been collapsed, in order to represent a single tip per species whenever possible. Colours indicate main clades recovered in the ITS nrDNA analyses of dataset 1: blue, yellow, magenta and green are clades A, B, C and D respectively. Names of species at branch tips follow the newly proposed nomenclature. Lines indicate the main incongruences between topologies. Numbers above branches: BPP support values. Branches with BPP support value lower than 90 have been collapsed.

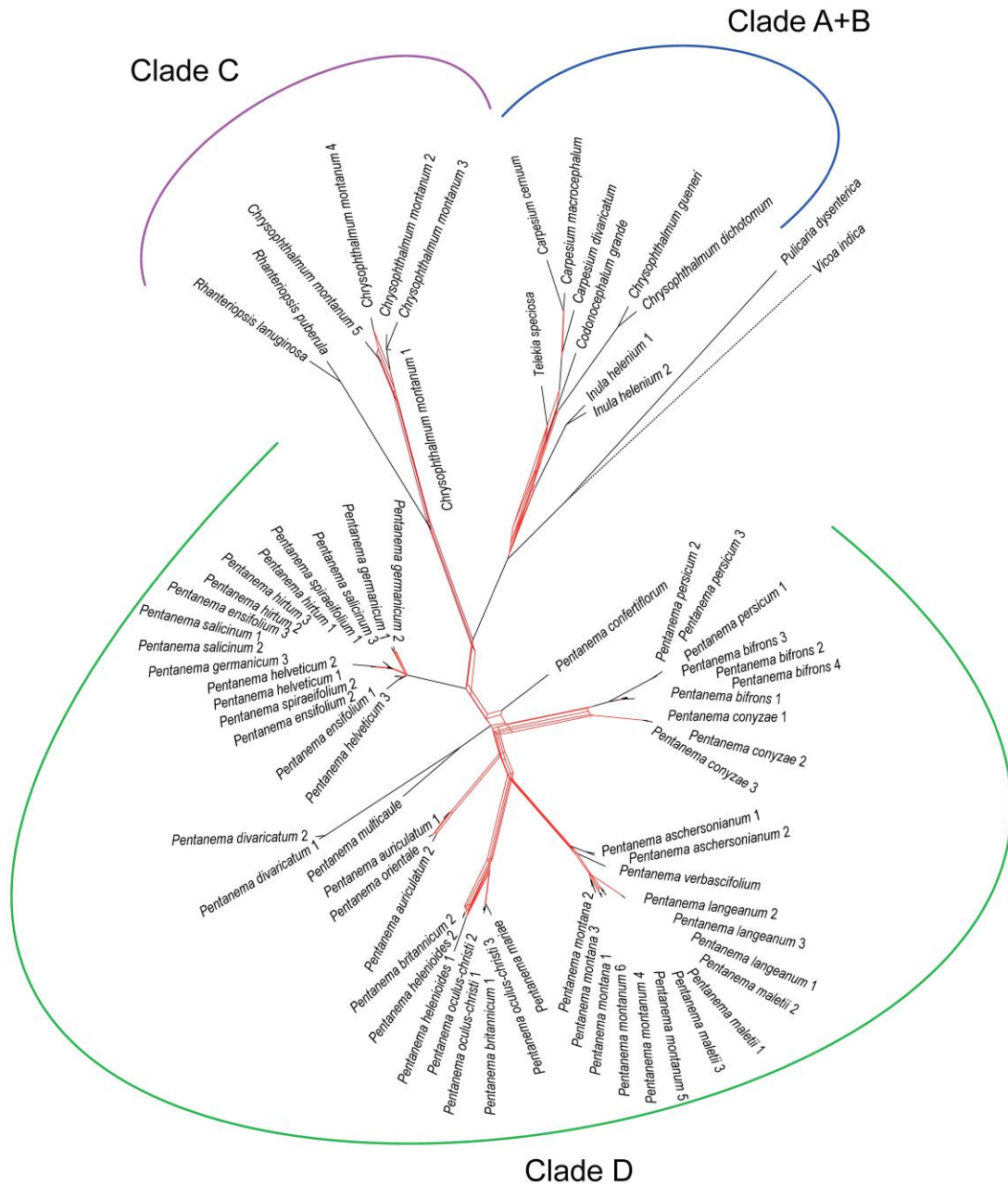


Fig. III. Consensus network obtained from the analysis of the ITS and cpDNA trees shown in Fig. II. Red edges represent incongruencies between markers.

Cypsel examination using SEM.— The morphology of the cypselae has been traditionally considered as a first order character in the taxonomy of the Asteraceae. Thus, detailed micrographs of the cypselae corresponding to selected species recovered in the *Inula* complex were performed. One individual of *I. helenium*, *I. montana*, *I. salicina*,



Pentanema divaricatum and *Varthemia persica* was selected, given that these species are representative of the main clades recovered in our analysis. Pictures are presented in Fig. IV. While *I. helenium* has prismatic (tetragonous) and glabrous cypselae, 3-5 mm in length, the remaining species studied have cylindrical (oblong), glabrous to densely hairy cypselae, 0.5 - 3 mm long.

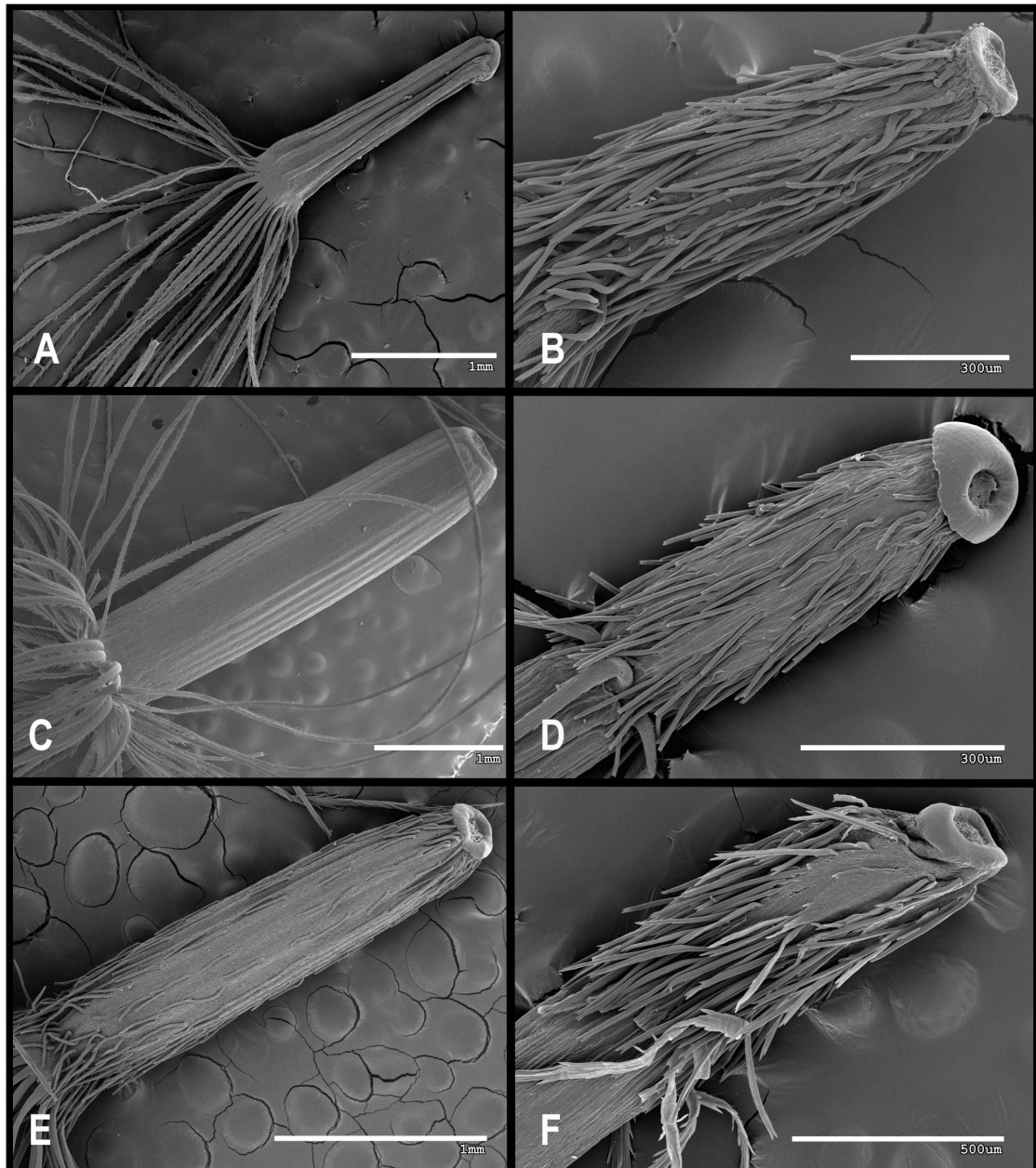


Fig. IV. Cypselae microphotography. A: *Pentanema salicinum* DG788; B: *Pentanema britannicum*, DG807; C: *Inula helenium*, DG808; D: *Pentanema divaricatum*, E00100893; E: *Pentanema montanum*, SA1162; F: *Pentanema persicum*, E00591725.



2.4. DISCUSSION

This study represents the most extensive phylogeny with a focus on the European species of *Inula*. In congruence with previous results (Anderberg *et al.*, 2005; Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Englund *et al.*, 2009; Santos-Vicente, 2013; Nylinder & Anderberg, 2015), it demonstrates that the *Inula* complex is monophyletic, and that several genera within it, such as *Chrysophthalmum* (3 species), *Pentanema* and *Inula*, are paraphyletic. Further studies including two unsampled species of *Rhanteriosis* are needed to test the monophyly of that genus.

The nomenclatural changes made in this paper are not only based on our present results, but also on results from analyses of the broader sampling of Englund *et al.* (2009) that covers most of the morphological variation in the *Inula* complex. These insights together with our present results lead to the following conclusions and the subsequently amended taxonomy.

Circumscription of Inula.— As previously discussed, one way to resolve the paraphyletic status of *Inula* minimizing the number of nomenclatural changes would have been to transfer *I. helenium* to *Corvisartia*, keeping the name *Inula* for the species in clade D. However, this option (Santos-Vicente *et al.*, 2012) was not favored by the Nomenclature Committee for Vascular Plants (Applequist, 2013).

Another alternative would be to adopt a wide concept of *Inula*, equivalent to the entire *Inula* complex (*i.e.*, clades A, B, C and D) and synonymizing a number of genera, but this would make *Inula* very heterogeneous from a morphological point of view. Considering that the base chromosome number of the taxa included in clade A is $x=10$, while in clade D it is $x=8$, a large *Inula* would be also a karyologically heterogeneous.

We argue that by preserving the name *Inula* for *Inula helenium* and related taxa such as *I. magnifica*, *I. racemosa*, or *I. royleana*, *Inula* circumscribed in this way would correspond with *Inula s.s. sensu* Anderberg (1991), which includes large herbs with resin canals in the stem and radiate capitula.

Telekia speciosa a species showing resin canals in the stem, appears as closely related to *Inula s.s.* in all phylogenetic reconstructions available (Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009), but it differs morphologically from the species included in this group, because the capitula have receptacular scales and fruits lack a pappus.

Inula peacockiana and *I. grandis*, both with resin canals, are recovered as well-supported sister species. We propose to resurrect for them the available combinations in



Codonocephalum, i.e., *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., and *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch.

Finally, *I. shirensis* and *I. paniculata* have traditionally been included into the “*Inula glomerata* group” (Anderberg, 1991; Englund *et al.*, 2009), which is composed of species distributed in tropical Africa and Madagascar and mainly characterized by the presence of disciform capitula [e.g. *Inula glomerata* Oliv. & Hiern, *Inula mannii* (Hook.f.) Oliv. & Hiern, *Inula speciosa* O. Hoffm., *Inula perrieri* (Humbert) Mattf.]. Our proposal here is again resurrecting the old name *Monactinocephalus paniculatus* Klatt for *I. paniculata*. As regards *I. shirensis*, the species represents an exception within the “*I. glomerata* group” due to the presence of rayed capitula, a character state that may have evolved secondarily. In this case, the following combination would be necessary:

Monactinocephalus shirensis (Oliv.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula shirensis* Oliv. in Hooker’s Icon. Pl. 14(4): t.1399. 1882.

***A new circumscription of Pentanema* Cass.**— *Pentanema* has traditionally been diagnosed by the presence of few pappus bristles (five to twenty). With the exception of the number of bristles, there is no other robust morphological trait for distinguishing between *Inula* and *Pentanema*. In its current circumscription *Pentanema* is also a paraphyletic genus (Anderberg, 1991; Duman & Anderberg, 1999; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009; and polyphyletic according to Pornpongrungrueng *et al.*, 2007). Both genera are considered residual taxonomic hodgepodes (after Duman & Anderberg, 1999) within the *Inula* complex, because they are diagnosed by the absence of certain traits which are characteristic of other smaller or monospecific genera (e.g. *Telekia*, *Chrysophthalmum*, *Rhanteriopsis*; Duman & Anderberg, 1999). Considering that the type species of *Pentanema* is *P. divaricatum*, that is recovered within clade D together with the remaining European and North African species of *Inula*, and that the name *Pentanema* has priority over *Varthemia* (also within clade D), the option we favor is to transfer the species of *Inula* included in clade D as well as *V. persica* to *Pentanema*. The latter species much resembles many Central Asian species of *Pentanema*, albeit with a more elongated growth habit.

Given that *P. indicum* is not a member of clade D, but of the “*Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade” and considering also that it has a chromosome base number different from the remaining species included in *Pentanema* as the genus is here circumscribed ($x=9$ instead of $x=8$), we propose the combination *Vicoa indica* (L.) DC. [traditionally included in *Inula*



sect. *Vicoa* (Cass.) O. Hoffm. in Engler & Prantl, Nat. Pflanzenfam. IV, 5: 203 (1890)] as a name for this species.

Pentanema in the newly proposed circumscription is described as follows:

Pentanema Cass. in Bull. Soc. Philom. Paris 74. 1818. \equiv *Inula* sect. *Pentanema* (Cass.) Boiss., Fl. Orient. 3: 199. 1875.

[*Pentanema*, gr., n-, —*pén-te*— five, and —*nema*— filament. Number of bristles pappus]

Dwarf shrubs, perennial or annual herbs, rarely biennial, generally rhizomatous; indumentum variable from glabrous-glabrescent to tomentose. *Stems* erect, not winged, without resin canals. *Leaves* alternate, \pm linear to ovate or elliptic, entire to serrate-crenate, petiolate to amplexicaul or decurrent. *Capitula* rarely solitary, generally many in terminal corymbs, generally heterogamous radiate to minutely radiate, or in few species heterogamous disciform, or homogamous discoid. *Involucral bracts* imbricate, usually unequal, in many rows, linear to ovate-lanceolate. *Receptacle* flat to \pm convex, alveolate, generally glabrous, epaleate. *Marginal florets* female, radiate, with a three-toothed corolla, clearly longer than the involucre, sometimes as long as the involucre, exceptionally slightly shorter, almost tubular in some species, bright yellow, rarely purplish. *Disc florets* hermaphrodite, corolla with a five-toothed corolla, brightly yellow, rarely with purplish tinge. *Anthers* ecalcarate, with branched tails; endothelial tissue radial. *Style* not thickened, branches wide with acute sweeping-hairs not reaching the furcation. *Cypselae* homomorphic, ellipsoid or cylindrical, ribbed, glabrous or hairy, with twin hairs on the entire surface or only apically; epidermis cells with one elongated crystal each. Pappus of barbellate, capillary bristles, (5) 8-35 (45), one-rowed, exceptionally a few isolated innermost bristles, free or rarely slightly connate at the base.

Ca. 40 species distributed in SW, S, C Asia, Africa and Europe. *Chromosome* base number $x=8$.

The following combinations under *Pentanema* are required:

Pentanema auriculatum (Boiss. & Balansa) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. **comb.nov.** \equiv *Inula auriculata* Boiss. & Balansa in Diagn. Pl. Orient. ser. 2, 3: 13. 1856.

Pentanema aschersonianum (Janka) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula aschersoniana* Janka in Oesterr. Bot. Z. 22: 179. 1872.



- Pentanema bifrons* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula bifrons* L., Sp. Pl. ed. 2: 1236. 1763.
- Pentanema britannicum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula britannica* L., Sp. Pl.: 882. 1753.
- Pentanema confertiflorum* (A. Rich.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula confertiflora* A. Rich., Tent. Fl. Abyss. 1: 399. 1848.
- Pentanema conyzae* (Griess.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Aster conyzae* Griess., Kleine Bot. Schr.: 122. 1836.
- Pentanema ensifolium* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula ensifolia* L., Sp. Pl.: 833. 1753.
- Pentanema germanicum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula germanica* L., Sp. Pl.: 883. 1753.
- Pentanema helenioides* (DC.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula helenioides* DC. in Lam. & DC., Fl. Franc., ed. 3, 5: 470. 1815.
- Pentanema helveticum* (Weber) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula helvetica* Weber, Pl. Min. Cogn. Diss.: 17. 1784.
- Pentanema hirtum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula hirta* L., Sp. Pl.: 883. 1753.
- Pentanema langeanum* (Beck) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula langeana* Beck, Europ. Inula-Art: 49. 1882.
- Pentanema maletii* (Maire) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula maletii* Maire in Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique N. 13: 40. 1922.
- Pentanema mariae* (Bordz.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula mariae* Bordz. in Zap. Kievsk. Obšč. Estestvoisp. 25: 115. 1915.
- Pentanema montanum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula montana* L., Sp. Pl.: 884. 1753.
- Pentanema salicinum* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **com.nov.** \equiv *Inula salicina* L., Sp. Pl.: 882. 1753.



Pentanema spiraeifolium (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula spiraeifolia* L., Syst. Nat., ed. 10: 1219. 1759.

Pentanema oculus-christi (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula oculus-christi* L., Sp. Pl.: 881. 1753.

Pentanema orientale (Lam.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Inula orientalis* Lam., Encycl. 3: 255. 1789.

Pentanema persicum (DC.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Varthemia persica* DC., Prodr. 5: 473. 1836.

Pentanema verbascifolium (Willd.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Conyza verbascifolia* Willd., Sp. Pl. 3: 1924. 1803.

Several characters allow distinguishing *I. helenium* from the species of *Pentanema* belonging to clade D. *Inula helenium* has resiniferous canals in the stem, while the species studied of *Pentanema* lack them. The external bracts of the involucre in *I. helenium* are ovate and bigger than those of *Pentanema*, which are linear to ovate-lanceolate and smaller. The shape and size of the cypselae are also different; in *I. helenium* they are prismatic (tetragonous, Fig. IVc) and up to 3 – 4 [5] mm long, while in *Pentanema* they are terate or slightly compressed (Fig. IV), 0.5 – 3 mm long. The number of pappus bristles is higher in *I. helenium* (50 – 80 [65]) than in *Pentanema* (<45). *Inula helenium* has a base chromosome number of $x=10$, while this number is $x=8$ in the species of *Pentanema* from clade D, which represents a clear synapomorphy for the group. Finally, while *I. helenium* is a large plant up to ca. 200 (250) cm tall, only a few species of *Pentanema*, such as *P. helveticum*, *P. conyzae*, *P. bifrons*, *P. langeanum* and *P. maletii* grow to up to 125 cm high, and the remaining species are always smaller.

Species monophyly and main lineages within *Pentanema*.— By including at least two samples per species, monophyly of most of them has been demonstrated. Only *P. auriculatum*, *P. britannicum* and *P. helenioides* were recovered as non-monophyletic (Fig. I), which can be explained mainly by the low molecular variability found.

The species within Subclade D1 are characterized by their long ray flowers, glabrous cypselae and xeromorphic leaves. This group is composed only of diploids and corresponds with Beck's (1882) group *I.* subsect. *longeligulatae* – *leiocarphae* Beck, and with the *I. salicina* group of Anderberg (1991).



Pentanema divaricatum and *P. multicaule* were recovered as sister species placed in an unresolved position within subclade D2 (Fig. 1). While *P. divaricatum* is a delicate annual found in the Middle East and Central Asia, *P. multicaule* is a suffruticose perennial endemic to the Middle East. Former studies (Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009) placed *P. glanduligerum* (Krasch.) Gorschk. and *P. vestitum* (Wall. ex DC.) Ling into the same clade as *P. divaricatum* and *P. multicaule*. The Turkish endemic *P. alanyense* H.Duman & Anderb. was recovered (Anderberg *et al.*, 2005; Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Englund *et al.*, 2009) close to *Chrysophthalmum dichotomum* and *Ch. gueneri*. Part of the remaining *Pentanema* species are endemic suffrutices distributed in Central Asia (Pamiro-Alai region and Afghanistan mainly). Although these groups of species are morphologically similar to *P. multicaule* or *P. glanduligerum*, further studies are required to resolve their phylogenetic position.

Attending to the results of Pornpongrungrueng *et al.* (2007), we also suggest to use the name *Vicoa cernua* Dalzell instead of *P. cernuum*. For the same reason, the following combination for *Pentanema ligneum* is mandatory:

Vicoa lignea (Mesfin) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Pentanema ligneum* Mesfin in Kew Bull. 50(2): 404. 1995.

Subclade D2 comprises different subgroups. One is composed of *P. conyzae*, *P. bifrons* and *P. persicum*. Beck (1882) included *I. conyzae* and *I. bifrons* within *I.* subsect. *breviligulatae* Beck, because they have short ray flowers. Anderberg (1991) also recognized this morphological group and included *I. decurrens* Popov and *I. thapsoides* Spreng. in it. Our molecular phylogeny identifies *P. persicum*, the unique species within clade D that has homogamous, discoid capitula, as a member of this group (in accordance with Englund *et al.*, 2009). The ray flowers of *P. conyzae* and *P. bifrons* are never longer than the internal involucre bracts (only rarely they exceed the bracts by 1-2 mm). A trend towards length reduction of ray flowers is observed within this group, with *P. persicum* representing the maximum reduction.

Also within Subclade D2 a subgroup subdivided into three lineages was recovered. The first is composed of *P. orientale* and *P. auriculatum*, a species pair that have hairy ray flowers and leaves. Based on morphology Beck (1882) and Anderberg (1991) considered that *P. orientale* is related to the species recovered within Subclade D1, because they have long ray flowers and glabrous cypselae. *Pentanema auriculatum*, an endemic species from the Caucasus region, had been considered to be closely related to *P. oculus-christi* (Grierson, 1975; Gosrchkova, 1999) due to its morphology and distribution. A second



lineage is composed of the polyploid species *P. britannicum*, *P. helenioides*, and *P. oculus-christi*, that together with *P. mariae* (unknown ploidy level) form a group of species that have frequently been confused. This is probably due to the fact that the characters traditionally used for species identification (*i.e.*, density of the indumentum of the leaves, number and size of capitula) are not clear. However, there are other morphological features which are more useful to identify these taxa, such as the position of the outer involucre bracts, the presence of multicellular hairs in the ray flowers, and the size of the cypsela. This second lineage corresponds to *I. subsect. longeligulatae – lasiocarpae* Beck, that matches also with the “*Inula britannica* clade” of Anderberg (1991). Beck (1882) included *P. montanum* in this subsection, but this species in our analysis (Fig. I, II, III) is recovered within the third lineage, together with *P. langeanum*, *P. maletii*, *P. verbascifolium* and *P. aschersonianum*. This third lineage groups together species endemic to the Mediterranean region and of variable ploidy levels, which had not been included until now in DNA sequence based phylogenetic analysis. *Pentanema langeanum* is endemic to C and N Iberian Peninsula, while *P. maletii* is only represented in the Middle Atlas Mountains of Morocco. *Pentanema verbascifolium* and *P. aschersonianum* are representatives of a species complex characterized by the presence of a more or less dense whitish sericeous indumentum covering the plant, distributed in the Balkan Peninsula and southern Italy. Finally, *P. montanum* is distributed from the Iberian Peninsula to Italy and North Africa and together with *P. verbascifolium* and *P. aschersonianum* are the diploid representatives of this group.

Amblyocarpum is the only remaining genus belonging to the *Inula* complex that was not included in our analysis. The phylogenetic position of this monotypic genus has, however, been demonstrated by Englund *et al.* (2009) and Nylinder & Anderberg (2015) who recovered it in the *Pentanema* group, thus, we propose the following combination:

Pentanema inuloides (Fisch. & C.A. Mey.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., **comb.nov.** \equiv *Amblyocarpum inuloides* Fisch. & C.A. Mey. in Index Seminum [St. Petersburg (Petropolitanus)] 3: 30. 1837.

Phylogenetic analysis and incongruence.— Several cases of incongruence have been found between the nuclear and plastid DNA datasets (Fig. II, III). Both the limitations in the use of molecular markers in phylogenetic reconstructions (Naciri & Linder, 2015) and the different problems derived from the use of multi-copy nrDNA markers (Alvarez & Wendel, 2003; Feliner & Rosselló, 2007) are well-known. Regarding our datasets, neither recombination, nor pseudogenes have been found in the nrDNA sequences analyzed and



none of the ITS sequences showed lower GC contents than expected, so that these properties can be excluded as putative sources of the incongruence found. Poor taxon sampling (*i.e.*, phylogenetic error; particularly regarding clade A, which is not the particular focus of this study) and sampling error (*i.e.*, low proportion of informative characters and consequent low resolution levels) may be producing part of the observed incongruence. Thus, the relationships between clades A and B, particularly among the species of *Carpesium* and *Chrysophthalmum*, are not resolved either in the nrDNA tree (dataset 2) or in the cpDNA phylogeny (Fig. II). The low levels of resolution obtained using these markers may also explain the different positions of some samples in the cpDNA reconstruction as in the cases of *Telekia speciosa* and *Codonocephalum grande* (Fig. II). Similarly, the low proportion of informative characters may be affecting the positions of the different samples representing the same species, as observed in *Pentanema aschersonianum*, *P. britannicum* or *P. helenioides* (Fig. II).

Further sources of incongruence (Wendel & Doyle, 1998; Naciri & Linder, 2015) such as hybridization and/or incomplete lineage sorting (ILS) are much more difficult to detect based only on the available data (Holland *et al.*, 2008; Degnan & Rosenberg, 2009). Additional analyses and information (e.g., population sizes and dating of divergence events) are required to evaluate the role of ILS in the evolution of the complex. Regarding hybridization, Englund *et al.* (2009) found incongruent topologies between plastid and nuclear markers affecting *Rhanteriopsis lanuginosa*, *Telekia speciosa* and *Pentanema confertiflorum* and argued that this could be due to ancient hybridization events. Our results would reinforce this view and add *R. puberula* and *Chrysophthalmum montanum* as further examples of species hypothetically affected by this processes.

Considering the impact of polyploidy in the evolution of Subclade D2 and the existence of mixed-ploidy populations (e.g., *P. langeanum*; Santos-Vicente, 2013), the reticulate patterns observed in this clade may be best explained by hybridization and introgression. *Pentanema conyzae* appears closely related to *P. langeanum* in the plastid DNA phylogeny. However the two species are morphologically similar and are placed in the nrDNA tree within the lineage that groups species endemic to the Mediterranean region and, particularly, close to those from the Western Mediterranean area (*i.e.*, *P. montanum*, *P. maletii* and *P. helenioides*). *Pentanema conyzae* is a tetraploid species related to *P. langeanum* that shows ploidy levels ranging from pentaploid to hexaploid (Santos-Vicente *et al.*, 2009; 2013). Polyploidization events may have played an important role in the evolution of this group and future studies with other markers will specifically address these issues.



2.5. ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financed by different phases of the Spanish national project *Flora iberica* [CGL2011-02982-C03-03] [CGL2014-52787-C3-2-P] and also by the projects [CGL2009-07555] and [CGL2012-32574], all of them supported by the Spanish *Ministerio de Economía y Competitividad*. DGL has granted also by the Spanish *Ministerio de Economía y Competitividad* (BES-2015-071270). We would like to express our gratitude to our colleagues for the field assistance. Thanks to the herbarium curators who help us kindly providing material for our study.

2.6. LITERATURE CITED

- ÁLVAREZ, I. & WENDEL, J.F. 2003. Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference. *Mol. Phylogenet. Evol.* 29: 417—434.
- ANDERBERG, A.A. 1991. Taxonomy and phylogeny of the tribe *Inuleae* (*Asteraceae*). *Plant Syst. Evol.* 176:75—123.
- ANDERBERG, A.A. 1993. *Inula* L. in: Jarvis, C.E., Barrie, F.R., Allan, D.M., Reveal, J.L. (eds.), A list of Linnaean generic names and their types. *Regnum veg.* 127: 57.
- ANDERBERG, A.A., ELDENÄS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M. 2005. Evolutionary relationships in the tribe *Inuleae* (incl. *Plucheeae*) evidenced by DNA sequences of *ndhF*; with notes on the systematic position of some aberrant genera. *Org. Divers. Evol.* 5:135—146.
- ANDERBERG, A.A. & ELDENÄS, P. 2007. Tribe *Inuleae*. Pp. 374—391 in: KADEREIT, J.W. & JEFFREY, C. (eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. 8, *Flowering Plants. Eudicots. Asterales*. Springer. Berlin. Germany.
- ANDERBERG, A.A. 2009. *Inuleae*. Pp. 667—680 in: FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYER, R.J. (eds.), *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomy.
- ANISIMOVA, M. & GASCUEL, O. 2006. Approximate likelihood-ratio test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. *Syst. Biol.* 55(4): 539—52.
- APPLEQUIST, W.L. 2013. Report of the Nomenclature Committee for Vascular Plants: 65. *Taxon* 62(6): 1315—1326.
- BECK, G. 1882. *Die europäischen Inula-Arten*. Der Kaiserlichen-Königlichen Hof- und Staatsdruckerei. Vienna. Austria.
- CASSINI, H. 1818. Aperçu des Genres nouveaux formés par M. Henri Cassini dans la famille des Synanthérées. *Bull. Soc. Philom.* 73—77
- CASTRESANA, J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.* 17: 540—552.
- DARRIBA, D., TABOADA, G.L., DOALLO, R. & POSADA, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat. Methods* 9: 772.
- DEGNAN, J.H. & ROSENBERGS, N.A. 2009. Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. *Trends Ecol. Evol.* 24: 332—340.
- DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11—15.
- DUMAN, H. & ANDERBERG, A.A. 1999. An undescribed species of *Pentanema* Cass. (*Asteraceae*-*Inuleae*) from Turkey, with notes on the phylogenetic status of the genus. *Bot. J. Linn. Soc.* 129: 333—338.



- ELDENÄS, P., ANDERBERG, A.A. & KÄLLERSJÖ, M. 1998. Molecular phylogenetics of the tribe *Inuleae* s. str. (Asteraceae), based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 210: 159—173.
- ELDENÄS, P., KÄLLERSJÖ, M. & ANDERBERG, A.A. 1999. Phylogenetic placement and circumscription of tribes *Inuleae* s. str. and *Plucheeae* (Asteraceae): Evidence from sequences of chloroplast gene *ndhF*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13: 50—58.
- ENGLUND, M., PORNPONGRUNGRUENG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in *Inuleae* subtribe *Inulinae* (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics*. 25:319—352.
- GOLOBOFF, P.A., FARRIS, J.S. & NIXON, K. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*. 24(5): 774—786.
- GRENIER, J.C.M. & GODRON, D.A. 1850. *Flore de France*, vol. 2. Besançon. London. United Kingdom.
- GRIERSON, A.J.C. 1975. *Inula* L. Pp. 54—73 in: DAVIS, P.H. (ed.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol. 5. Edinburgh University Press. Edinburgh. United Kingdom.
- GUINDON, S., DUFAYARD, J.F., LEFORT, V., ANISIMOVA, M., HORDIJK, W. & GASCUEL, O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59(3): 307—21.
- HOLLAND, B.R., BENTHIN, S., LOCKHART, P.J., MOULTON, V. & HUBER, K.T. 2008. Using supernetworks to distinguish hybridization from lineage-sorting. *BMC Evolutionary Biology* 8: 202.
- HUSON, D.H. & BRYANT, D. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol. Biol. Evol.* 23: 254—267.
- KAWANG-PIL, YOO & SEON-JOO, PARK. 2012. A Phylogenetic Study of Korean *Carpesium* L. based on nrDNA ITS Sequences. *Korean J. Plant Res.* 25 (1): 96—104
- KOPUCHIAN, C. & RAMÍREZ, M.J. 2010. Behaviour of resampling methods under different weighting schemes measures and variable resampling strengths. *Cladistics* 26: 86—97.
- LEMEY, P. & POSADA, D. 2009. Introduction to recombination detection. Pp. 493—518 in: LEMAY, P., SALEMI, M. & VANDAMME, A.M. (eds.), *The phylogenetic handbook*. Cambridge: Cambridge University Press.
- LINNAEUS, C. 1753. *Species Plantarum*. Impensis Laurentii Salvii, Holmiae, Suecia.
- LIU, J.S. & SCHARDL, C.L. 1994. A conserved sequence in internal transcribed spacer 1 of plants nuclear rRNA genes. *Plant. Mol. Biol.* 26: 775—778.
- MARTIN, D.P., LEMAY, P., LOTT, M., MOULTON, V., POSADA, D. & LEFEUVRE, P. 2010. RDP3: a flexible and fast computer program for analyzing recombination. *Bioinformatics* 26: 2462—2463.
- MÉRAT, F.V. 1812. *Nouvelle flore des environs de Paris*. De L'Imprimerie de Crapelét. Paris. France.
- MÜLLER, K. 2005. SeqState: primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA datasets. *Appl. Bioinformatics* 4: 65—69.
- NACIRI, Y. & LINDER, H.P. 2015. Species delimitation and relationships: The dance of the seven veils. *Taxon*. 64 (1): 3—16. <http://dx.doi.org/10.12705/641.24>
- NIETO-FELINER, G. & ROSELLÓ, J.A. 2007. Better the devil you know? Guidelines for insightful utilization of nrDNA ITS in species-level evolutionary studies in plants. *Mol. Phyl. Evol.* 44: 911—919. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2007.01.013>



- NYLINDER, S. & ANDERBERG, A.A. 2015. Phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Plucheinae. *Taxon*. 64 (1): 110—130.
- PORNONGRUNGRUENG, P., BORCHSENIUS, F., ENGLUND, M., ANDERBERG, A.A. & GUSTAFSSON, M.H.G. 2007. Phylogenetic relationships in *Blumea* (Asteraceae: Inuleae) as evidenced by molecular and morphological data. *Plant Syst. Evol.* 269(3-4): 223—43.
- RAMBAUT, A., SUCHARD, M.A., XIE, D. & DRUMMOND, A.J. 2014. Tracer v1.6, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- REICHENBACH, H.G. 1853. *Icones florum germanicarum et helveticarum*, vol. 16. Sumptibus Ambrosii Abel. Lipsiae. Borussia.
- REUTER, J.S. & MATHEWS, D.H. 2010. RNAstructure: software for RNA secondary structure prediction and analysis. *BMC bioinformatics* 11:129.
- ROQUE, N., KEIL, D.J. & SUSANNA A. 2009. Illustrated glossary of Compositae. Pp. 781—806 in: FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYES, R.J. (eds.), *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomy.
- RONQUIST, F., TESLENKO, M., VAN DER MARK, P., AYRES, D.L., DARLING, A., HÖHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M.A. & HUELSENBECK, J.P. 2012. Mrbayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst. Biol.* 61: 539—542.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E. 2009. *Inula bifrons* L., *I. conyzae* (Griess.) DC., *I. ensifolia* L., *I. helenium* L. & *I. helvetica* Grauer (Asteraceae) in: MARHOLD, K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 8. *Taxon* 58(4): 1288, E20-21.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E. 2012. Proposal to conserve the name *Inula* (Asteraceae) with a conserved type. *Taxon* 61(6): 1331—1332.
- SANTOS-VICENTE, M. 2013. *Estudio Biosistemático del género Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. PhD Dissertation, University de Salamanca, Salamanca, Spain.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E. 2013. *I. helenioides* DC., *I. langeana* Beck, *I. maletii* Maire, *I. montana* L., *I. oculus-christi* L. & *I. salicina* L. (Asteraceae). In: MARHOLD, K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 16. *Taxon* 62(6): 1360, E15-E16.
- SCHUR, P.J.F. 1866. *Enumeratio plantarum Transsilvaniae*. Sumptibus C. Graeser. Vindobonae. Austria.
- SIMMONS, M.P. & OCHOTERENA, H. 2000. Gaps as Characters in Sequence-Based Phylogenetic Analyses. *Syst. Biol.* 49(2): 369—381.
- SHAW, J., LICKY, 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. *Am. J. Bot.* 97 (3): 275—88.
- SWOFFORD, D.L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0 Beta. Sunderland: Sinauer.
- TALAVERA, G. & CASTRESANA, J. 2007. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Syst. Biol.* 56: 564—577.
- THIERS, B. 2016. (continuously updated) *Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated stuff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 10 July 2016).
- VARGAS, P., BALDWIN, B.G. & CONSTANCE, L. 1998. Nuclear ribosomal DNA evidence for a western North American origin of Hawaiian and South American species of *Sanicula* (Apiaceae). *Prox. Natl. Acad. Sci. USA*. 95: 235—240.



- WENDEL, J.F. & DOYLE, J.J.** 1998. Phylogenetic incongruence: window into genome history and molecular evolution. Pp. 265—296 in: SOLTIS, E.D., SOLTIS, P.S. & DOYLE, J.J. (eds.), *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing*. Kluwer Academic. Dordrecht. Netherlands.
- WHITE, T.J., BRUNS, T., LEE, S. & TAYLOR, J.** 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315—322 in: INNIS, M.A., GELFAND, D.H., SNINSKY, J.J. & WHITE, T.J. (eds), *PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications*. Academic Press. San Diego. USA.



2.7. APPENDIX

Specimens collected with voucher information (country, locality, coordinates –if available-, altitude, date, collector and number), herbarium number or code (in brackets, *sensu* Thiers, continuously updated) and GenBank accession numbers (four codes per sample in the following order: ITS, trnQ-rpl12, rpl32-trnL, trnL-ndhF; or three codes per sample in the following order: trnQ-rpl12, rpl32-trnL, trnL-ndhF). Additional sequences obtained from GenBank (ITS sequences) are presented below.

Carpesium cernuum L. Cult. Bergius Botanic Garden, Stockholm. *Englund 04-004* (S), (KY696283*, KY696334*, KY696409*, KY696484*). ***Carpesium divaricatum*** Sieb. & Zucc. **TAIWAN:** Chung & Anderberg 1422 (S), (KY696335* KY696410* KY696485*). ***Carpesium macrocephalum*** Franch. & Sav. Cult. Bergius Botanic Garden, Stockholm. *Englund 04-005* (S), (KY696345*, KY696420*, KY696495*). ***Chrysophthalmum dichotomum*** Boiss. & Heldr.: **TURKEY:** Duran 3018 (S), (KY696336*, KY696411*, KY696486*). ***Chrysophthalmum gueneri*** Aytaç & Anderb. **TURKEY:** Duman 7072 (S), (KY696339*, KY696414*, KY696489*). ***Chrysophthalmum montanum*** (DC.) Boiss.: **TURKEY:** Malatya, 31 km NE Gölbaşı, ca. 4 km SW Erkenek, 1300 m, 18-VII-1978, F. Ehrendorfer, F. Sorger, D. Fürnkranz, M.A. Fischer & A. Öztük, 787-65B-3 (WU), (KY696289*, KY696344*, KY696419*, KY696494*). Nigde, Ala Gagliari, Karamük Bogazi ravine south Demirkazık Köy. 37°42'N 35°25'0, 1750 m, 14-VIII-1992, P. Hein, AG 284-43 (B 10 0158349), (KY696285*, KY696340*, KY696415*, KY696490*). Adana, Pozanti, 3 miles north on eastward slopes of Toro Dagi, 13-VII-1991. A251 (E00591564), (KY696286*, KY696341*, KY696416*, KY696491*). Adana, Pozanti, 3 miles north of the eastward slopes of Toros Dagi, 1100 m, 13-VII-1991, A118 (E00591565), (KY696287*, KY696342*, KY696417*, KY696492*). **IRAQ:** Rechinger 13-15169 (S), (KY696288*, KY696343*, KY696418*, KY696493*). ***Inula auriculata*** Boiss. & Balansa: **ARMENIA:** Aragatsotn, Aragat Mt., Ghazaravan, Medina et al., LM2608 (SALA 136002), (KY696292*, KY696349*, KY696424*, KY696499*). Vayots Dzor, Vardenis slopes, ca. 5 km of the Selim's cross, 39°56'30"N 45°14'07"E, 2100 m, 23-VI-2005, A. Herrero & al., AH2654 (SALA 136003), (KY696559*, KY696348*, KY696423*, KY696498*). ***Inula bifrons*** L.: **BULGARY:** Rhodopes Centrales. Buynovsko Gorge. 41°38'30"N 24°20'03"E, 1040 m, 02-VII-2004, C. Navarro & al., CN4778 (SALA 136005), (KY696293*, KY696350*, KY696425*, KY696500*). **FRANCE:** Alpes-de-Haute-Provence, Reillanne, Delgado & Santos-Vicente, MS777 (SALA 135421), (KY696294*, KY696351*, KY696426*, KY696501*). **ITALY:** Alessandria, Tortona, slopes of the Tortona's castle, 32TMQ8971, 44°53'38.2"N 08°52'12.1"E. 368 m, 28-VII-2006, M. Santos Vicente & L. Delgado, MS783 (SALA 136031), (KY696295*, KY696352*, KY696427*, KY696502*). **SPAIN:** Segovia, Sacramenia, Coto de San Bernardo, 30TVL2394, 900 m, 10-VIII-2007, M. Santos Vicente & L. Delgado Sánchez, MS948 (SALA 135422), (KY696296*, KY696362*, KY696437*, KY696512*). ***Inula britannica*** L. **AUSTRIA,** Niederösterreich, Marchegg, Delgado & Santos-Vicente MS810 (SALA 136030), (KY696560*, KY696355*, KY696430*, KY696505*). **GREECE:** Kalomira. 39°44'48.5"N 21°23'46.3"E. 1032m. 25-VI-2009. X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente, MS1263 (SALA 160094), (KY696297*, KY696354*, KY696429*, KY696504*). ***Inula confertiflora*** A. Rich.: **ETHIOPIA:** Hylander et al. 288 (UPS), (KY696359*, KY696434*, KY696509*). ***Inula conyzae*** (Griess.) DC. **ITALY:** Trieste, Duino castle, Delgado & Santos-Vicente, MS789 (SALA 136026), (KY696562*, KY696362*, KY696437*, KY696512*). **SPAIN:** Burgos: Panizares. 30TVN63. 750 m. M. Martínez-Ortega & M. Santos Vicente, MS1220 (SALA 136119), (KY696300*, KY696360*, KY696435*, KY696510*). Santander: Valdeprado del Río, Arcera, 30TVN1347, 42°52'14.8"N 04°03'38.0"W, 824 m, 04-VIII-2005, M. Santos Vicente & L. Delgado, MS625 (SALA 135803), (KY696301*, KY696361*, KY696436*, KY696511*). ***Inula ensifolia*** L.: **AUSTRIA:** Wien, Mödlingm pr. Eichkogel. 33UWP9624, 48°03'57.1"N 16°17'33.3"E, 320 m. 21-VII-2005. M.M. Martínez Ortega, L.M. Muñoz Centeno, L. Delgado & M. Santos Vicente, MS608 (SALA 136034), (KY696303*, KY696365*, KY696440*, KY696515*). **ITALY:** Udine, Gemona del Friuli, Quarnan Mt. Delgado, Martínez-Ortega, Muñoz-Centeno & Santos-Vicente, MS600 (SALA 135420) (KY696563*, KY696364*, KY696439*, KY696514*). **TURKEY:** Kiklareli, 6 km from Vize to Kömürköy-Alk. 41°35'41"N 27°49'27"E. 388 m. 23-VI-2009. X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente, BR46 (SALA 160095), (KY696302*, KY696363*, KY696438*, KY696513*). ***Inula germanica*** L.: **AUSTRIA:** Wien, Mödling, road to Eichkogel. 33UWP9623. 48°03'43.2"N 16°17'30.6"E. 322 m. 21-VII-2005. M.M. Martínez Ortega, L.M. Muñoz Centeno, L. Delgado & M. Santos Vicente, MS614 (SALA 136035), (KY696305*, KY696367*, KY696442*, KY696517*). **ARMENIA:** Syunik, Nerkin Hand vil. Gonzalo et al., RG301 (SALA 136006), (KY696564*, KY696368*, KY696443*, KY696518*). **BULGARY:** Plovdiv, Popovitsa, surroundings of Popovitsa. 42°07'24.5"N 25°04'24.8"E. 212 m. 18-VI-2009, X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente, MS1225 (SALA 160096), (KY696304*, KY696366*,



KY696441*, KY696516*). ***Inula grandis*** Schrenk: **AFGHANISTAN:** Badakshan, 30.0 km south Keshim. 36.5527N 70.1817E. 2101 m. 23-VI-2009. PEACE PROJECT, 2055 (E00392438), (KY696306*, KY696369*, KY696444*, KY696519*). ***Inula helenioides*** DC.: **SPAIN:** La Rioja, Lagunilla del Jubera, towards Zenzano. *Abad, Andrés-Sánchez, Martínez-Ortega & Santos-Vicente, MS759* (SALA 136023), (KY696568*, KY696370*, KY696445*, KY696520*). Soria, Burgo de Osma-Ciudad de Osma, Santiuste. 30TWM0308 41°37'28.3"N 002°57'35.7"W. 950 m. 23-VIII-2007. *M. Santos Vicente & L. Delgado Sánchez, MS953* (SALA 135800), (KY696307*, KY696371*, KY696446*, KY696521*). ***Inula helenium*** (L.) Mérat: **ARMENIA:** Vayots Dzor, Ger-Ger. *Herrero et al., AH2848* (SALA 136001), (KY696284*, KY696337*, KY696412*, KY696487*). **SPAIN:** Soria, Abejar, road to Molinos de Duero. 30TWM1728, 41°48'30.8"N 002°47'25.4"W. 1100 m. 23-VIII-2007. *M. Santos Vicente, L. Delgado Sánchez & C. Molina Martín, MS957* (SALA 135423), (KY696565*, KY696338*, KY696413*, KY696488*). ***Inula helvetica*** Grauer: **SPAIN,** Álava: Lantarón, Puentelarrá. *A. Abad, S. Andrés-Sánchez, M.M. Martínez-Ortega & Santos-Vicente, MS752* (SALA 135459), (KY696567*, KY696377*, KY696452*, KY696527*). Burgos: Jurisdicción de San Zadornil, San Millán de San Zadornil, Omecillo river. 30TVN8745, 42°51'28.1"N 03°09'21.9"W. 610 m. 12-VII-2004. *J.A. Sánchez Agudo, M. Santos Vicente & S. Andrés Sánchez, MS407* (SALA 135417), (KY696311*, KY696376*, KY696451*, KY696526*). Lérida: Esplot, entre el pueblo y el Camping Voraparc, 31TCH4237716383. 5-IX-2009. *D. Pinto Carrasco, P. Marcos Villaverde & E. Rico, DP620* (SALA 135669), (KY696310*, KY696375*, KY696450*, KY696525*). ***Inula hirta*** L.: **AUSTRIA:** Wien, Mödling, Eichkogel. 33UWP9624, 48°03'49.9"N 16°17'33.8"E. 351 m. 21-VII-2005. *M.M. Martínez Ortega, L.M. Muñoz Centeno, L. Delgado & M. Santos Vicente, MS612* (SALA 136039), (KY696566*, KY696373*, KY696448*, KY696523*). **BULGARY:** Sliven, Natural parl of Sinite Kamani, 42°44'04.4" 26°17'24.2"E. 834m. 20-VI-2009. *X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente, BR35* (SALA 160097), (KY696308*, KY696372*, KY696447*, KY696522*). **ITALY:** Udine, between Cividale de Friuli and Castelmonte, *L. Delgado & M. Santos-Vicente, MS792* (SALA 136028), (KY696309*, KY696374*, KY696449*, KY696524*). ***Inula langeana*** Beck: **SPAIN,** Beck Spain: Álava: Lantarón, Puentelarrá, *A. Abad, S. Andrés-Sánchez, M.M. Martínez-Ortega & M. Santos-Vicente, MS755* (SALA 136022), (KY696313*, KY696380*, KY696455*, KY696530*). Burgos: Panizares. 30TVN63. 750 m. *M.M. Martínez-Ortega & M. Santos Vicente, MS1220* (SALA 136119), (KY696312*, KY696378*, KY696453*, KY696528*). Burgos, Jurisdicción de San Zadornil, San Millán de San Zadornil, Alto Yerdos. 30TVN8943, 42°50'43.8"N 03°07'58.6"W. 645 m. 12-VII-2004. *J.A. Sánchez Agudo, M. Santos Vicente & S. Andrés-Sánchez, MS408* (SALA 136047), (KY696569*, KY696379*, KY696454*, KY696529*). ***Inula maletii*** Maire: **MOROCCO:** Tadmra-Azilal, Col de Tanout ou Fillal. *A. Quintanar et al., AQ2153* (SALA 136007), (KY696570*, KY696383*, KY696458*, KY696533*). Middle Atlas, Ifrane, Tizi-n-Tretten. 33°27'32"N 05°02'09"W. 1980 m. 10-VII-2006. *A. Herrero & al., AH3347* (SALA 136015), (KY696314*, KY696381*, KY696456*, KY696531*). Beni Mellal, El Ksiba. 32°30'36"N, 06°00'04"W. 1878 m. 05-VII-2006. *A. Quintanar & al., AQ2043* (SALA 136016), (KY696315*, KY696382*, KY696457*, KY696532*). ***Inula mariae*** Bordz.: **ARMENIA:** Syunik, Vil. Tandzatap and Ahavni. *Gonzalo et al., RG109* (SALA 136008), (KY696571*, KY696384*, KY696459*, KY696534*). ***Inula montana*** var. *calycina* (Presl) Batt. **MOROCCO:** Marrakech-Tensift-Al Haouz, Adrar-n-Oukaïmeden, *A. Herrero et al., AH3113* (SALA 136009), (KY696561*, KY696356*, KY696431*, KY696506*). High Atlas, Oukaïmeden. 31°11'52"N, 07°51'55"W. 30-VI-2006. *A. Herrero & al., AH3215* (SALA 136064), (KY696298*, KY696357*, KY696432*, KY696507*). Circle of Jaffar, slope N. 32°32'17"N, 04°54'01"W. 2160 m. 07-VII-2006. *S. Castroviejo & al., SC17917* (MA745022), (KY696299*, KY696358*, KY696433*, KY696508*). ***Inula montana*** L var. *montana*: **FRANCE:** Bouches-du-Rhône, Le Tholonet, Aix-en-Provence. 31TGJ0421, 43°31'10.0"N, 05°31'47.6"E. 253 m. 27-VII-2006. *M. Santos Vicente & L. Delgado, MS778* (SALA 136041), (KY696318*, KY696387*, KY696462*, KY696537*). **SPAIN:** León, Cistierna, Valmartino, near the river. 30TUN2839, 42°47'26.9"N, 05°05'45.1"W. 1090 m. 03-VIII-2005. *M. Santos Vicente & L. Delgado, MS619* (SALA 136076), (KY696317*, KY696386*, KY696461*, KY696536*). Segovia, Sepúlveda, road to San Frutos del Duratón. 30TVL3571, 41°17'55"N, 03°45'17"W. 986 m. 15-VI-2005. *M.M. Martínez-Ortega, X. Giráldez & L.M. Muñoz Centeno, MO1832* (SALA 136013), (KY696316*, KY696385*, KY696460*, KY696535*). ***Inula oculus-christi*** L.: **AUSTRIA:** Wien, Mödling, Eichkogel. *L. Delgado, M.M. Martínez-Ortega, L.M. Muñoz-Centeno & M. Santos-Vicente, MS610* (SALA 136019), (KY696572*, KY696389*, KY696464*, KY696539*). **Wien,** Wien, Mödling, Eichkogel. 21-VII-2005. *M.M. Martínez Ortega, L.M. Muñoz Centeno, L. Delgado & M. Santos Vicente, MS613* (SALA 160385), (KY696320*, KY696390*, KY696465*, KY696540*). **BULGARY:** Plovdiv, between Oreshets and Dobrostan, near to the road. 41°53'44.2"N, 24°55'58.0"E. 1109 m. 18-VI-2009. *X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente, MS1222* (SALA 160098), (KY696319*, KY696388*, KY696463*, KY696538*). ***Inula orientalis*** Lam.: **GEORGIA:** Mtskheta-Mtianeti, Kazbegi, east Kazbegi. 42°39'N 44°40'E. 1850 m. 20-VII-1997. *P. Schönschwetter & A. Trisbsch, 39* (WU), (KY696321*, KY696391*, KY696466*, KY696541*). ***Inula salicina*** L.: **ARMENIA:** Tavush: Haghartsin monastery. *Castroviejo et al., SC17478* (SALA 136012), (KY696573, KY696392, KY696467, KY696542). Tavush: Between Haghartsin



village and cross road to Chambarak. 40°46'12"N 45°00'33"E. 945 m. 21-VI-2005. *S. Castroviejo et al.*, SC17645 (SALA136014), (KY696322*, KY696393*, KY696468*, KY696543*) **SPAIN**: Burgos, Trespaderne, up to the Tejada's castle. 30TVN6638, 42°47'53.8"N, 03°24'16.8"W. 620 m. 25-VI-2005. *M. Santos Vicente & L.P. Gavilán*, MS588 (SALA 136081), (KY696323*, KY696394*, KY696469*, KY696544*). *Inula spiraeifolia* L.: **ITALY**: Trieste, Lamiano, Monfalcone. *Delgado & Santos-Vicente*, MS791 (SALA 136027), (KY696325*, KY696396*, KY696471*, KY696546*). Trieste, Duino, Duino's castle. 33TUL9269, 45°46'19.5"N 13°36'52.8"E. 75 m. 30-VII-2006. *M. Santos Vicente & L. Delgado*, MS788 (SALA 136091), (KY696324*, KY696395*, KY696470*, KY696545*). *Inula verbascifolia* Hausskn. **GREECE**: Peloponesus, Lakonia, Taigetos, mts. Lagadha gorge, 37°05'38"N 22°20'08"E, 500 m. VI/VII-2008, *C. Aedo et al.*, CA14233 (SALA 140779), (KY696326*, KY696397*, KY696472*, KY696547*). *Inula verbascifolia* subsp. *archersoniana* (Janka) Tutin.: **BULGARY**: Plovdiv, Bačkov, natural park of Červenata Stena ("The Red Wall"), 41°56'16.7"N 24°51'46.3"E, 526 m, 18-VI-2009, *X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente*, MS1220bis (SALA 160091), (KY696290*, KY696346*, KY696421*, KY696496*). Plovdiv, Between Oreshets and Dobrostan, near the road, 41°53'47.3"N 24°55'53.6"E, 1128m, 18-VI-2009, *X. Giráldez, M.M. Martínez Ortega, B. Rojas Andrés & M. Santos Vicente*, MS1223 (SALA 160092), (KY696291*, KY696347*, KY696422*, KY696497*). *Pentanema divaricatum* Cass.: **OMAN**: Musandam Khasba, Near recharge dam. 26°12'N 056°15'E. 0-250 m. 13-III-1994. *I. McLeish*, 3506 (E00100893), (KY696328*, KY696399*, KY696474*, KY696549*). **IRAN**: *Rechinger*, 19401 (S), (KY696327*, KY696398*, KY696473*, KY696548*). *Pentanema indicum* (L.) Ling: **NEPAL**: Karnali zone, Humla District, North side of Thanke Khola. 29°44'59"N 82°03'19"E. 1660 m. 14-VI-2008. *C.A. Pendry, S. Baral, S. Noshiro, P.P. Kurmi, B. Dell, B. Adhikari*, JRS B132 (E00397278), (KY696329*, KY696401*, KY696476*, KY696551*). *Pentanema multicaule* Boiss.: **IRAN**: *Karis*, 732 (S), (KY696402*, KY696477*, KY696552*). *Pulicaria dysenterica* (L.) Bernh.: **FRANCE**: Bouches-du-Rhône, Vauvernargues. *Delgado & Santos-Vicente*, MS779 (SALA 136025), (KY696574*, KY696400*, KY696475*, KY696550*). *Rhanterioopsis lanuginosa* (DC. & Boiss.) Rauschert: **SYRIA**: Palmyra, Jebel al Todmoria, 90km SW Palmyra. 900 m. 9-VIII-1983. *W. Frey & H. Kürschner*, 83-666 (E00586802), (KY696330*, KY696403*, KY696478*, KY696553*). *Rhanterioopsis puberula* (Boiss. & Hausskn.) Rauschert: **IRAN**: Loristan, Dow Rud. 1500-1600 m. 17-VI-1974. *K.H. Rechinger*, 48198 (S), (KY696331*, KY696404*, KY696479*, KY696554*). *Telekia speciosa* (Schreb.) Baumg.: **SLOVENY**: Postojna, between Postojna and Cerkniško lake. *Delgado & Santos-Vicente*, MS806 (SALA 136029), (KY696575*, KY696405*, KY696480*, KY696555*). *Varthemia persica* D.C.: **IRAN**: Fars, S.E. of Tal-i-Khusrovi. 2470 m. 23-VII-1966. *J.C. Archibald*, 2835 (E00591725), (KY696333*, KY696408*, KY696483*, KY696558*). *Akhani*, 11698 (W), (KY696406*, KY696481*, KY696556*). **AFGHANISTAN**: Kabul, Salang Pass. 35°20'N 69°10'E. 26-VIII-1965. *J.D.A. Stainton*, 5069 (E00591722), (KY696332*, KY696407*, KY696482*, KY696557*).

Asteriscus maritimus (L.) Less.: (U84772.1). *Blumea balsamifera* (L.) DC.: voucher ZY130604, (KF443296.1). *Buphthalmum salicifolium* L.: voucher *Anderberg & Anderberg* 7292 (S), (EF210964.1). *Carpesium divaricatum* Sieb. & Zucc. **TAIWAN**: *Chung & Anderberg* 1422 (S), (EF210965 b). *Carpesium glossophyllum* Maxim.: voucher ANH: 00090813, (JQ062521.1). *Carpesium macrocephalum* Franch. & Sav. Cult. Bergius Botanic Garden, Stockholm. *Englund 04-005* (S), (FM995368). *Carpesium rosulatum* Miq.: voucher KH: 42142, (JQ062523.1). *Carpesium triste* Maxim.: voucher KWNU: 070450, (JQ062525.1). *Caesulia axillaris* Roxb.: voucher *Pandry* 3021 (S), (EU195642.1). *Chrysophthalmum dichotomum* Boiss. & Heldr.: **TURKEY**: *Duran* 3018 (S), (FM995369). *Chrysophthalmum gueneri* Aytac & Anderb. **TURKEY**: *Duman* 7072 (S), (FM995370). *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter: (GU818558.1). *Duhaldea cappa* (Buch. -Ham. ex D.Don) Pruski & Anderb.: (KP092568.1). *Inula confertiflora* A. Rich.: **ETHIOPIA**: *Hylander et al.* 288 (UPS), (FM99575). *Inula japonica* Thunb.: voucher PS0698MT05, (GU724300.1). *Inula paniculata* (Klatt) Burt Davy: *Hylander et al.* 231 (UPS), (FM995378.1). *Inula peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) Korovin: *Rechinger & Rechinger* 4956 (S), (FM995379.1). *Inula racemosa* Hook.f.: (EU257426.1). *Inula shirensis* Oliv.: *Milne-Redhead & Taylor* 10276 (B), (FM995380.1). *Iphiona scabra* DC. ex Decne.: (AF545823.1). *Jasonia tuberosa* (L.) DC.: (U84779.1). *Limbaria crithmoides* (L.) Dumort.: *Anderberg*. (S), (FM995387.1). *Pallenis spinosa* (L.) Cass.: *Karis* 951 (S), (EF210968.1). *Pentanema multicaule* Boiss.: **IRAN**: *Karis* 732 (S), (F2908982). *Pulicaria glutinosa* (Boiss.) Jaub & Spach: *FS119* (KSU), (KF815511). *Pulicaria lanata* E.Gamal-Eldin: (AY165044.1). *Pulicaria odora* (L.) Rchb.: *M. Ait Lafkih* 110, (HE602393.1). *Pulicaria schimperii* DC.: *FS192* (KSU), (KF815513.1). *Pulicaria vulgaris* Gaertn.: (KJ004326.1). *Rhanterium epapposum* (Oliv.): *Nilsson et al.* (S), (EF210970.1). *Stenachaenium campestre* Baker: *Englund 05-001* (S), (EF210931.1). *Varthemia persica* DC.: **IRAN**: *Akhani* 11698 (W).



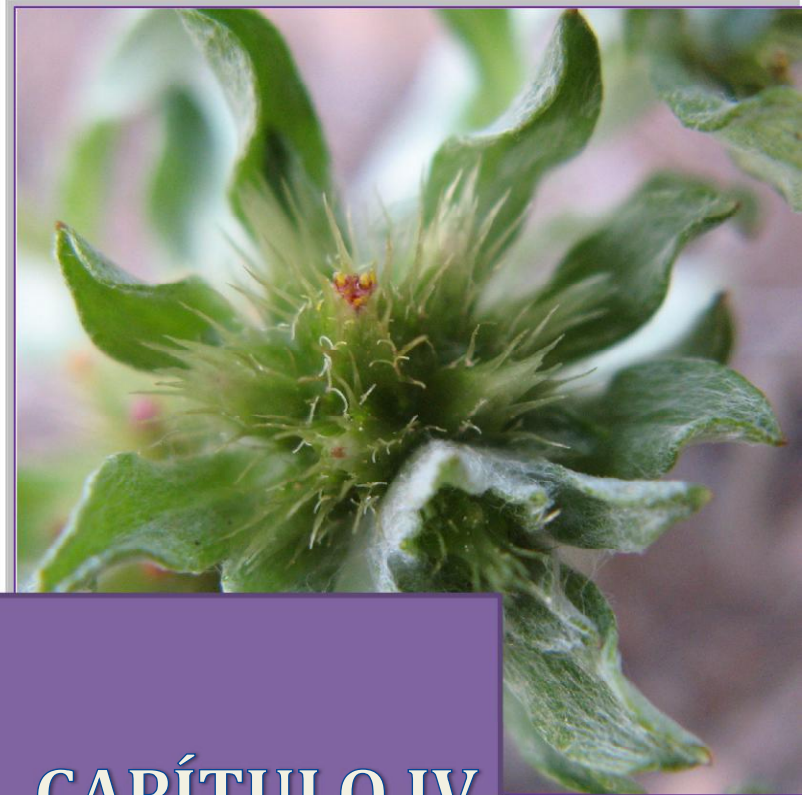
SUPPLEMENTAL MATERIAL



Figure S1. Phylogenetic tree obtained from the Maximum Likelihood analysis of ITS of dataset 1. Numbers above branches indicate aLRT support values. Branches receiving <90 support were collapsed.



Figure S2. Phylogenetic tree obtained from the Maximum Parsimony analysis of ITS of dataset 1. Number above branches Jackknife support values. Branches receiving <90 support were collapsed.



CAPÍTULO IV

Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade
(Gnaphalieae, Asteraceae)



Overlooked singulativity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae)

[*Botanical Journal of the Linnean Society*, 2015, **179**, 742–754]

Santiago Andrés-Sánchez^{1,2,*}, David Gutiérrez-Larruscain^{1,2*}, Enrique Rico^{1,2} & María Montserrat Martínez-Ortega^{1,2}.

1 *University of Salamanca, Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Licenciado Méndez Nieto Ave., E-37007 Salamanca, Spain.*

2 *University of Salamanca, Biobanco de ADN Vegetal, Edificio I+D+i, Espejo st., E-37007 Salamanca, Spain.*

Author for correspondence: Santiago Andrés-Sánchez, santiandres@usal.es

*Estos autores contribuyeron igualmente en este trabajo

Resumen.— *Filago desertorum* en su circunscripción tradicional es una especie con un gran rango de variabilidad morfológica. Algunos autores han sugerido que este taxón puede estar formado por un heterogéneo complejo de especies. Se ha realizado una revisión taxonómica y un análisis de huella genética tipo AFLP de las especies incluidas en el "*Filago desertorum* clade". Se reconocen tres especies dentro de este grupo, una de las cuales se describe por primera vez en este trabajo. Se aporta la descripción de *F. castroviejoi* **sp.nov.**, junto a una revisión nomenclatural y una clave del especies para el *Filago desertorum* clade.



Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae)

S. ANDRÉS-SÁNCHEZ^{1,2*}†, D. GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN^{1,2}†, E. RICO^{1,2} and M. M. MARTÍNEZ-ORTEGA^{1,2}

¹*Departamento de Botánica, Facultad de Biología, Universidad de Salamanca, 37007 Salamanca, Spain*

²*Biobanco vegetal, Banco Nacional de ADN, Universidad de Salamanca, Edificio Multiusos I + D + I, Calle Espejo s/n, 37007 Salamanca, Spain*

Received 26 January 2015; revised 17 May 2015; accepted for publication 7 July 2015

Filago desertorum, as traditionally circumscribed, is a species that shows high levels of morphological variation. Previous authors have even suggested that this taxon should represent a heterogeneous assembly of true biological species. A taxonomic revision of the species included in the *Filago desertorum* clade was performed, and amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers were used to explore the phylogenetic relationships among the members of the clade. Three species are recognized in the group, one of which is newly described. A full description of *F. castroviejoi* sp. nov., a complete nomenclatural treatment and a key to the species included in the clade are provided. © 2015 The Linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2015, **179**, 742–754

ADDITIONAL KEYWORDS: AFLPs – Compositae – identification key – Morocco – Spain – species delimitation – taxonomy – typification.

INTRODUCTION

The genus *Filago* L. (Asteraceae) is widely represented in the Northern Hemisphere. The Iberian Peninsula, northern Morocco and northern Algeria, and the Aegean Region, Middle East and Egypt are particularly species-rich areas and putative centres of diversity for this genus. *Filago* has been recircumscribed recently on the basis of sequence data from nuclear and plastid DNA (Galbany-Casals *et al.*, 2010), morphological characters (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011, 2015) and further evidence including genome size (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013c). The genus is monophyletic and is considered to be independent from *Logfia* Cass. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez, Martínez-Ortega & Rico, 2013a) and *Bombycilaena* (DC.) Smoljan. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez, Martínez-Ortega

& Rico, 2014). According to this new classification, the genus comprises *c.* 40 taxa.

Filago is composed of small annual plants with a tomentose to villose eglandular indumentum, alternate, sessile leaves, mainly sessile, heterogamous capitula grouped in glomerula often surrounded by a ray of leaves, paleae arranged in a few rows subtending the external female florets (these filiform and often outnumbering the hermaphrodite ones, which are tubular and perfect or functionally male), female and hermaphrodite florets apically attached to an oblong achene, and a pappus, when present, composed of scabrid bristles. The delimitation of species in *Filago* is not an easy task because of the scarcity of morphological characters that have been considered to be relevant for the taxonomy of the genus, and also because many of these characters are probably affected by homoplasy (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Furthermore, the general aspect of the individuals, even within one population, varies greatly, probably in connection with environmental factors (Authors, pers. observ.),

*Corresponding author. Email: santiandres@usal.es.

†These authors contributed equally to this work.

which has further complicated the identification of morphological traits of potential taxonomic value.

Traditionally, particularly after the detailed studies conducted by Wagenitz (1968), the individuals of *Filago* from the semi-desert areas of south-eastern Spain, the Canary Islands, North Africa and south-western Asia, that have hairs at the margin of the internal paleae, have been included under the variability of the species *Filago desertorum* Pomel. Wagenitz (1968) had already commented on the high level of morphological variation among plants that, based on this character, could be determined as *F. desertorum* and had suggested that this taxon represented a heterogeneous assembly of true biological species. However, he was unable to find any correlation among morphological traits, geographical areas and/or ecological conditions, and therefore avoided the description of new species or subspecies in this taxonomic group.

A relatively recent DNA sequence-based phylogenetic analysis of the *Filago* group (Galbany-Casals *et al.*, 2010) included, among others, two different samples identified as *F. desertorum*. Some level of sequence divergence was found between these two samples and, surprisingly, the species was not recovered as monophyletic. The specimen named '*F. desertorum* 1' from Israel was found to be closely related to the morphologically divergent species *F. mareotica* Delile, whereas '*F. desertorum* 2' from north-eastern Morocco showed a sister group relationship to the clade formed by the two preceding samples (i.e. *F. mareotica* + '*F. desertorum* 1'). These specimens comprised a clade, named Clade F by Galbany-Casals *et al.* (2010), and will hereafter be referred to as the '*Filago desertorum* clade'. Moreover, whilst preparing a taxonomic revision of *Filago* for *Flora iberica* [Castroviejo (Coord. Gen.), 1986–2014], we found several morphological differences between individuals previously determined as *F. desertorum* from the Iberian Peninsula and north-western Morocco and those from the remaining areas in which the plant is present.

In this work, an accurate revision of herbarium specimens has been carried out in order to search for characters with taxonomic and/or phylogenetic value in the study group. The use of genomic data to provide insight into the systematics and evolution of *Filago* has proved to be a requirement in a genus in which the widespread presence of homoplasy in morphology has obscured the taxonomic boundaries between species and has repeatedly led to unnatural classifications (Galbany-Casals *et al.*, 2010). Considering this fact, we have selected an anonymous whole-genome fingerprinting method, i.e. amplified fragment length polymorphism (AFLP), to try to examine the phylogenetic relationships among the

closely related species included in the *Filago desertorum* clade and to establish taxonomic limits between them accurately. This method has been repeatedly shown to be a useful tool in similar studies (e.g. Kardolus, Van Eck & Van den Berg, 1998; Werres *et al.*, 2001; Bottini *et al.*, 2002; Martínez-Ortega *et al.*, 2004; Meudt & Clarke, 2007; Van den Berg & Groendijk-Wilders, 2007; Duminil *et al.*, 2012; Prebble, Meudt & Garnock-Jones, 2012; Paul, Nandi & Palni, 2013; Magauer *et al.*, 2014). More specifically, our aims are as follows: (1) to test whether the species traditionally named *F. desertorum* is monophyletic; (2) to assess the taxonomic identity of those *Filago* from north-western Morocco and south-eastern Spain with hairs at the margin of the internal paleae.

MATERIAL AND METHODS

PLANT MATERIAL, SAMPLING STRATEGY AND OUTGROUP SELECTION

An exhaustive review of herbarium material previously identified as *F. desertorum* (hereafter *F. desertorum s.l.*) was conducted. In total, 290 sheets deposited in the herbaria ABH, ALME, B, BC, BCN, BM, COA, COI, G, GDA, GOET, JACA, K, MA, MAF, MJG, MPU, P, SALA, SEV, VAL, W and WU (listed by their acronyms according to Thiers, 2014, continuously updated) were studied. To complete the information obtained, 30 populations in their natural habitats were visited and at least one sheet from each was lodged at the herbarium of the University of Salamanca, Spain (SALA).

In addition, leaf material from 71 individuals from 19 populations from North Africa, the Iberian Peninsula and the Canary Islands, identified as *F. desertorum s.l.* (17 populations) and *F. mareotica* (two populations), was collected and dried in silica gel (see Appendix). Three to five individuals per population were included, except for two populations of *F. desertorum s.l.* from the Iberian Peninsula, because, in these cases, only one or two individuals were available. Each sampling site was geo-referenced with a GARMIN GPSMAP 60 and voucher specimens were deposited at SALA. Five additional samples from the same population of *F. lutescens* Jord. were selected to be used as outgroup in the neighbour-joining (NJ) analysis. The selection of this outgroup was based on the results of Galbany-Casals *et al.* (2010).

DNA ISOLATION AND AFLP FINGERPRINTING

Total genomic DNA was isolated from crushed dried leaf material (c. 25 mg) following the 2 × cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) protocol (Doyle & Doyle, 1987) with modifications. The quality of the extracted DNA was checked in 1% tris acetate ethyl-

enediaminetetraacetic acid (TAE) agarose gel. A negative control sample was consistently included to test for contamination, and five random chosen samples were replicated to test for reproducibility. Total isolated DNA was deposited at the Plant DNA Bank of the University of Salamanca.

AFLP profiles were drawn for the 76 sampled plants following established protocols (Vos *et al.*, 1995) with minor modifications. An initial screening of selective primers was performed using 19 primer combinations. The three finally selected primer combinations (fluorescent dye in parentheses), *EcoRI*-AGA(6-FAM)/*MseI*-CC, *EcoRI*-ACT(6-FAM)/*MseI*-CTC and *EcoRI*-AGG(VIC)/*MseI*-CTC (hereafter, primer combinations 1, 2 and 3, respectively), were used for the selective polymerase chain reaction. These combinations were selected because they generated clear and reproducible bands for which homology was easy to ensure. They also showed appropriate levels of variation among the taxa included in the *F. desertorum* clade and within and among populations. Samples (3 μ L) of the fluorescently labelled selective amplification products were combined and separated on a capillary electrophoresis sequencer (ABI 3730 DNA Analyser; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with GenScan ROX (Applied Biosystems) as an internal size standard.

AFLP DATA ANALYSIS

Raw AFLP data with amplified fragments from 100 to 500 base pairs (bp) were scored and exported as a presence/absence matrix using the software GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems). Ambiguous peaks were manually removed. The data matrix used for further analyses is available on request from the corresponding author.

As a first approach to the global genetic relationships among the analysed individuals and possible structure of the data, an NJ analysis including 10 000 bootstrap (BS) pseudoreplicates (Felsenstein, 1985) based on a matrix of Nei & Li (1979) distances was conducted with the software PAUP 4.0b10 (Swofford, 2003). To show reticulate relationships among putative taxa, an unrooted NeighborNet (NNet) was produced using the program SplitsTree 4.13.1 (Huson & Bryant, 2006), with the distance uncorrected *P*. The outgroup *F. lutescens* was excluded from this analysis.

In addition, a principal coordinate analysis (PCoA) based on a matrix of Dice's coefficient, which is suitable for multilocus dominant genetic data (Dice, 1945; Lowe, Harris & Ashton, 2004), among individuals was performed in NTSYS-pc 2.21c (Applied Biostatistics, Inc.; Rohlf, 2009).

Population genetic structure was additionally investigated using a Bayesian clustering method

implemented in STRUCTURE v. 2.3.4 (Pritchard, Stephens & Donnelly, 2000) following the approach described by Falush, Stephens & Pritchard (2007) for dominant markers. This method uses a Markov chain Monte Carlo simulation approach to group samples into an optimal number of genetic clusters (*K*) and does not assume the a priori assignment of individuals to populations or to clusters. Analyses were based on an admixture ancestral model with correlated allele frequencies among populations. The proportion of membership of each individual and population to the *K* clusters was calculated, performing five runs for each *K* value between two and 19 (equal to the number of populations plus one and excluding the outgroup *F. lutescens*) with a run length of the Markov chain Monte Carlo and a burn-in period of 1×10^6 and 1×10^6 iterations, respectively. *K* was estimated using the *ad hoc* parameter (ΔK statistic) of Evanno, Regnaut & Goudet (2005), as implemented in the online application of Structure Harvester software (v0.63; Earl & von Holdt, 2012).

Analysis of molecular variance (AMOVA; Excoffier, Smouse & Quattro, 1992) was carried out with Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier & Lischer, 2010). This analysis was used to distribute genetic variation into portions assignable to differences among predefined groups (F_{CT}), among populations within these groups (F_{SC}) and within populations across the entire dataset (F_{ST}) (Turner *et al.*, 2000). From a taxonomic perspective, this could be translated into differences between species and allows us to test the taxonomic hypothesis (Knijff *et al.*, 2001). The AMOVA was performed, arranging all populations of the *F. desertorum* clade into three of the four taxonomic groups found in NJ, NNet and PCoA excluding *F. lutescens* (outgroup).

RESULTS

MORPHOLOGY

The identification of *F. mareotica* from *F. desertorum s.l.* is relatively easy on the basis of morphological characters. *Filago mareotica* has solitary capitula, generally arranged as a monochasium, whereas *F. desertorum s.l.* has clusters of capitula, usually arranged as a dichasium or pleochasium. The number of paleae per capitulum is 15–25 in *F. mareotica* and 25–30 in *F. desertorum s.l.*, and the abaxial face of the internal paleae is completely glabrous in *F. mareotica* and only has hairs near the margin in *F. desertorum s.l.*

Furthermore, the study of herbarium material allowed the identification of two morphotypes within the variation of *F. desertorum s.l.* First, those samples hereafter named as *F. desertorum s.s.* have villose-tomentose external paleae, capitula and clusters

Table 1. Number of samples, populations, fragments, polymorphic fragments and their percentage per species

Taxon	No. samples	No. populations	No. fragments	No. polymorphic fragments	% polymorphic fragments
<i>Filago lutescens</i>	5	1	78	33	0.42
<i>F. mareotica</i>	8	2	117	80	0.68
<i>F. desertorum</i>	24	7	197	166	0.84
<i>F. castroviejoii</i>	39	10	147	124	0.84
Total	76	20			

(because the abaxial face of the paleae is villose-tomentose) and ovate capitula with five slightly marked angles. They are present in south-western Asia (from the Middle East to India), North Africa (from Egypt to Morocco, but here restricted to the south of the Atlas mountain range) and the Canary Islands.

In contrast, those individuals assigned to ‘morphotype *castroviejoii*’ are characterized by glabrous to subglabrous external paleae, capitula and clusters (the abaxial face of the external paleae is glabrous or has a few hairs near the margin in this case) and pyramidal capitula with five strongly marked angles. These plants grow in the Iberian Peninsula and north-eastern Morocco (north of the Atlas range).

AFLP DATA ANALYSES

The three primer combinations applied to 76 selected plants representative of the variation of the *F. desertorum* clade plus *F. lutescens* produced 255 polymorphic and reproducible fragments for which homology was easy to ensure (primer combinations 1, 2 and 3 generated 104, 80 and 71 fragments, respectively). The final error rate was not significant. Table 1 summarizes data on the total number of alleles, number and percentage of polymorphic fragments for each species or morphotype.

Both the NJ analysis (Fig. 1A) and PCoA (Fig. 1B) showed that the genetic variation of the study group was organized into four groups, which correspond to well-established species (i.e. *F. mareotica*, *F. lutescens*) and to the morphotypes previously described within the variation of *F. desertorum s.l.* The NNet (Fig. 1C) diagram conducted on all individuals, excluding the outgroup, revealed an overall structure of genetic variation within the ingroup into three main groups that was congruent with NJ analysis and PCoA. NNet, in contrast with the NJ-derived results, showed a position of *F. desertorum s.s.* closer to *F. mareotica* than to ‘morphotype *castroviejoii*’.

BS values calculated for the NJ topology (Fig. 1A) provided strong support for the monophyly of the *F. desertorum* clade (100% BS) and for *F. mareotica*

(100% BS) and for ‘morphotype *castroviejoii*’ (90% BS). However, neither *F. desertorum s.s.* nor the suggested close phylogenetic affinity between ‘morphotype *castroviejoii*’ and *F. mareotica* shown by the NJ analysis received strong BS support.

The first three axes of the PCoA accounted for 17.53%, 11.48% and 8.95%, respectively (37.98% in total), of the total variance of the model.

The samples belonging to *F. desertorum s.s.* formed a less discrete group than those corresponding to ‘morphotype *castroviejoii*’ or to *F. mareotica* in both the NNet and PCoA diagrams. Also, the branch lengths were longer for these samples in the NJ analysis.

The Bayesian analysis of population structure showed a maximum $\Delta K = 975.842032$ value for the optimal value $K = 3$. In this analysis, the individuals identified as *F. mareotica* were detected as a single group (cluster 1; Fig. 1D, green), whereas those initially determined as *F. desertorum s.l.* were mainly grouped into two different major clusters, corresponding to *F. desertorum s.s.* (cluster 2; Fig. 1D, blue) and ‘morphotype *castroviejoii*’ (cluster 3; Fig. 1D, red). A low proportion of membership to clusters 1 and 3 was detected in particular individuals from populations 7 and 9, and clusters 1 and 2 were almost insignificantly represented in populations 10, 12, 14, 17 and 18.

The AMOVA showed that 35.89% of the total genetic variability of the dataset could be attributed to genetic differentiation within all populations ($F_{ST} = 0.6411$), 34.37% to variation among populations within taxonomic groups ($F_{SC} = 0.4891$) and 29.75% to differences among taxonomic groups ($F_{CT} = 0.2974$).

DISCUSSION

DETERMINATION OF SPECIES BOUNDARIES WITHIN THE *F. DESERTORUM* CLADE

Our results demonstrate the capacity of AFLP markers to determine species boundaries in *Filago*, a genus that lacks sufficient morphological traits relevant to provide satisfactory infrageneric taxonomic treatments (Wagenitz, 1969; Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011, 2013c).

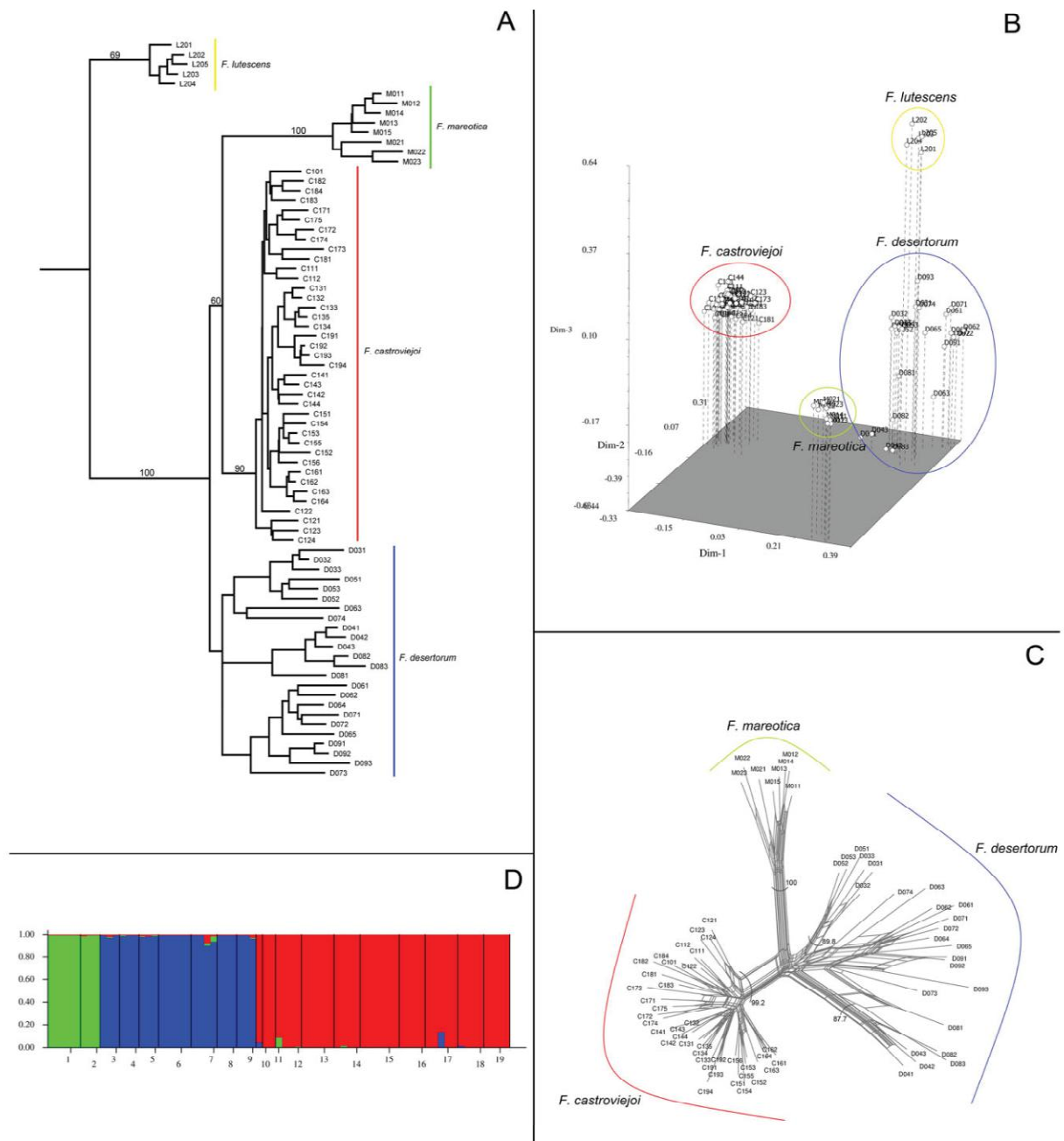


Figure 1. A, Amplified fragment length polymorphism (AFLP) phylograms of a neighbour-joining (NJ) analysis of pairwise Nei & Li distances among individuals of the *Filago desertorum* complex; bootstrap values are shown. B, Principal coordinate analysis (PCoA) of all investigated individuals of the *F. desertorum* complex. C, NeighborNet (NNet) derived from AFLP data of the *F. desertorum* complex. In A, B and C, the names of all the individuals are coded to allow identification: the first letter indicates the species name (C for *F. castroviejoii*; D for *F. desertorum*; L for *F. lutescens* and M for *F. mareotica*); the first two numbers correspond to the population number (01 to 20); the last number indicates the individual within a particular population. D, Bayesian analysis of population structure of the studied *F. desertorum* complex. AFLP genotypes were arranged into three clusters using the software STRUCTURE v. 2.3.4; green, *F. mareotica*; blue, *F. desertorum*; red, *F. castroviejoii*.

Filago desertorum s.l. has been traditionally considered to be a widely distributed and morphologically variable species (Wagenitz, 1968). Both our AFLP genetic data and the intraspecific levels of sequence variation detected by Galbany-Casals *et al.* (2010) between two samples identified as *F. desertorum s.l.* congruently suggest that this species is not monophyletic.

The distance-based phenograms (Fig. 1A, C) and Bayesian analysis of population structure (Fig. 1D) resulted in good resolution levels for the recognition of three taxonomic entities in the *F. desertorum* clade. In addition, AMOVA suggested that a significant part of the total genetic variability of the dataset could be attributed to genetic differentiation among these taxonomic entities.

These genetic data support the recognition of at least two independent taxa in the variation of those *Filago* that have hairs on the margin of the internal paleae. In a superficial analysis, these two taxonomic entities are morphologically similar, but the exhaustive revision of herbarium specimens and the closer examination of morphological traits have allowed the recognition of two morphotypes, each characterized by a set of morphological characters, which correspond to the groups identified using genetic markers. Furthermore, these morphotypes show non-sympatric distribution areas: *F. desertorum s.s.* has a Saharo-Sindican, Irano-Turanian and Macaronesian distribution, whereas 'morphotype *castroviejoii*' is restricted to the south-eastern Iberian Peninsula and north-eastern Morocco north of the Atlas range. Based on all this evidence, we consider that 'morphotype *castroviejoii*' should be recognized at the specific rank as *Filago castroviejoii* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort.

The third taxonomic entity identified in the '*Filago desertorum* clade' corresponds to the traditionally recognized and well-characterized species *F. mareotica*. Its distribution area roughly coincides with that of *F. desertorum s.l.* (Andrés-Sánchez, Martínez-Ortega & Rico, 2013b), but it shows differences in morphology (Galbany-Casals *et al.*, 2010), genome size (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013c) and ecological preferences (Galbany-Casals *et al.*, 2010).

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS WITHIN THE *F. DESERTORUM* CLADE

The genetic markers used in this study have provided additional independent data to explore the phylogenetic relationships among those taxa belonging to the *F. desertorum* clade. *Filago mareotica* was traditionally considered to be an isolated taxon in *Filago*. Pomel (1888), for example, considered that this species should

be recognized as a different genus, *Gifolaria* (Coss. & Kral.) Pomel., and other authors (Cosson & Kralik, 1857; Wagenitz, 1969) included it in *Filago* section *Gifolaria* Coss. & Kral. DNA sequence data from nuclear and plastid genomes suggested, for the first time, a phylogenetic relationship between *F. mareotica* and *F. desertorum s.l.* (Galbany-Casals *et al.*, 2010). In particular, these authors identified a close affinity between a sample from Israel identified as *F. desertorum s.s.* (sub '*F. desertorum* 1') and *F. mareotica*, a group that was recovered as monophyletic (99% BS), with *F. castroviejoii* (sub '*F. desertorum* 2') as sister to it (98% BS). AFLP data generated in the present study confirmed the monophyly of the *F. desertorum* clade (100% BS, Fig. 1A), including the three species *F. castroviejoii*, *F. desertorum s.s.* and *F. mareotica*. However, these data did not shed light on the relationships among the species, as the phylogenetic relationships between *F. mareotica*, *F. castroviejoii* and *F. desertorum s.s.* were not congruent between the NJ and NNet analyses (Fig. 1A, C). The first analysis showed a close relationship between *F. mareotica* and *F. castroviejoii*, whereas the positions of *F. mareotica* and *F. desertorum s.s.* in NNet [congruent with the internal transcribed spacer (ITS) tree; Galbany-Casals *et al.*, 2010] suggested a close relationship between these two taxa (Fig. 1C). This incongruence may be a result of the fact that we used an outgroup in the first analysis, but not in the second. Moreover, the phylogenetic affinity between *F. castroviejoii* and *F. mareotica* suggested by the NJ analysis received low BS support (60%). This low statistical support is probably a result of the lack of congruence among the reconstructions based on each selective primer combination separately (Supporting Information, Figs S1–S3), as one suggests a connection between *F. castroviejoii* and *F. desertorum s.s.* (Fig. S1, primer combination *EcoRI*-AGA(6-FAM)/*MseI*-CC), whereas primer combinations 2 and 3 (Figs S2 and S3, corresponding to primers combinations *EcoRI*-ACT(6-FAM)/*MseI*-CTC and *EcoRI*-AGG(VIC)/*MseI*-CTC) show a relationship between *F. mareotica* and *F. castroviejoii*.

Incongruence between AFLP data and nuclear DNA sequences (e.g. Hodkinson *et al.*, 2000; El-Rabey *et al.*, 2002; Semerikov *et al.*, 2003; Koopman, 2005) are less frequent than between AFLP and plastid DNA (Koopman, 2005). Semerikov *et al.* (2003) and Koopman (2005) suggested that these incongruences could be artefactual or reflect some peculiarities in the evolution of the genome. According to these authors, AFLP markers are quickly evolving and might be less reliable than ITS for phylogenetic inference. For this reason, and according to the results obtained by Galbany-Casals *et al.* (2010), *F. mareotica* and *F. desertorum s.s.* could have a closer affinity than either of these species with *F. castroviejoii*.

HIGH GENETIC POLYMORPHISM IN
F. DESERTORUM S.S.

Although all the samples identified as *F. desertorum* s.s. were grouped in the same cluster in NJ analysis, NNet and PCoA, this cluster did not receive significant BS support. Moreover, these samples defined a less discrete group than those corresponding to *F. castroviejoi* or to *F. mareotica* in all of these analyses, and the branch lengths in NJ were higher. In addition, the total number of alleles and the number of polymorphic alleles were relatively high, in comparison with those found for the species *F. castroviejoi*.

High levels of intraspecific genetic variation have been found previously in some genera of tribe Gnaphalieae [e.g. *Helichrysum* Mill. (Galbany-Casals *et al.*, 2011), *Raoulia* alliance (Smitsen, Breitwieser & Ward, 2004) and *Leucogenes* Beauverd (Smitsen & Breitwieser, 2008)], and in some *Filago* spp. [e.g. *F. argentea* (Pomel) Chrtek & Holub and *F. pygmaea* L. (Galbany-Casals *et al.*, 2010) and *F. aegaea* Wagenitz (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015)]. According to Galbany-Casals *et al.* (2010) and Andrés-Sánchez *et al.* (2015), the intraspecific variation found in some *Filago* spp. could suggest hybridization or incomplete lineage sorting of ancestral polymorphism. Hybridization among extant taxa seems unlikely in *Filago* as, after more than a decade of field and herbarium observations, we have never found plants showing intermediate morphologies between well-established species, not even in areas in which species from the same clade grow nearby, but ancient hybridization cannot be excluded as an important mechanism that might have acted in the evolution of the *F. desertorum* clade. These evolutionary mechanisms could also be the cause of the relatively high genetic variation found in *F. desertorum* s.s.

The high genetic polymorphism could also be related to the fact that *F. desertorum* s.s. is a morphologically variable taxon (Wagenitz, 1968; Authors, pers. observ.), and the possibility of identifying hidden unrecognized taxa within it exists, particularly considering the small number of morphological characters with taxonomic value traditionally used in *Filago*.

Last, it should also be considered that *F. desertorum* s.s. shows a wide distribution area (Wagenitz, 1968, 1969; Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b) and, although the samples selected for this study constitute a rough representation of the distribution area of the species (Tunisia, Algeria and the Canary Islands), they may not represent well its complete geographical range and variation. This could also be a reason why apparent high levels of genetic polymorphism have been found within *F. desertorum* s.s. Further studies are needed in order to try to give a satisfactory explanation to all of these issues.

TAXONOMIC TREATMENT

A relatively small number of morphological characters have been traditionally used for the characterization and identification of *F. desertorum* s.l. *Filago castroviejoi* shares states of these morphological characters (namely abaxial face of the internal paleae glabrous with hairs near the margin) with *F. desertorum* s.s., and this is probably the reason why the first taxonomic entity has been overlooked for so long.

Given that the lectotype of *F. desertorum* is a specimen (MPU004840; Wagenitz, 1968) collected by Pomel in Algeria, it corresponds well with the Saharo-Sindican, Irano-Turanian and Macaronesian morphotype and, according to the *Internacional Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants* (McNeill *et al.*, 2012), the name *F. desertorum* Pomel should be retained.

A complete description of the new south-eastern Iberian/north-eastern Moroccan species is provided here, with a complete taxonomic treatment for *F. desertorum* and *F. mareotica*.

***FILAGO CASTROVIEJOI* ANDRÉS-SÁNCHEZ,
D.GUT.LARR., E.RICO & M.M.MART.ORT. SP. NOV.
(FIGS 2, 3)**

Diagnosis: A propiore specie, *F. desertorum*, differt propter externis receptacularibus paleis glabris ad subglabris in abaxialis faciei tergo exhibere et pyramidalia capitula cum quinque angulis fortiter notatis.

IDENTIFICATION KEY

- | | |
|---|------------------------|
| 1. Internal paleae glabrous; capitula solitary; paleae 15–25 per capitula..... | <i>F. mareotica</i> |
| –. Internal paleae with hairs near the margin; capitula arranged in subglobose clusters; paleae 25–30 per capitula..... | 2 |
| 2. Clusters, capitula and external paleae glabrous or subglabrous; capitula pyramidal with five strongly marked angles..... | <i>F. castroviejoi</i> |
| –. Clusters, capitula and external paleae villose–tomentose; capitula ovate with five slightly marked angles..... | <i>F. desertorum</i> |

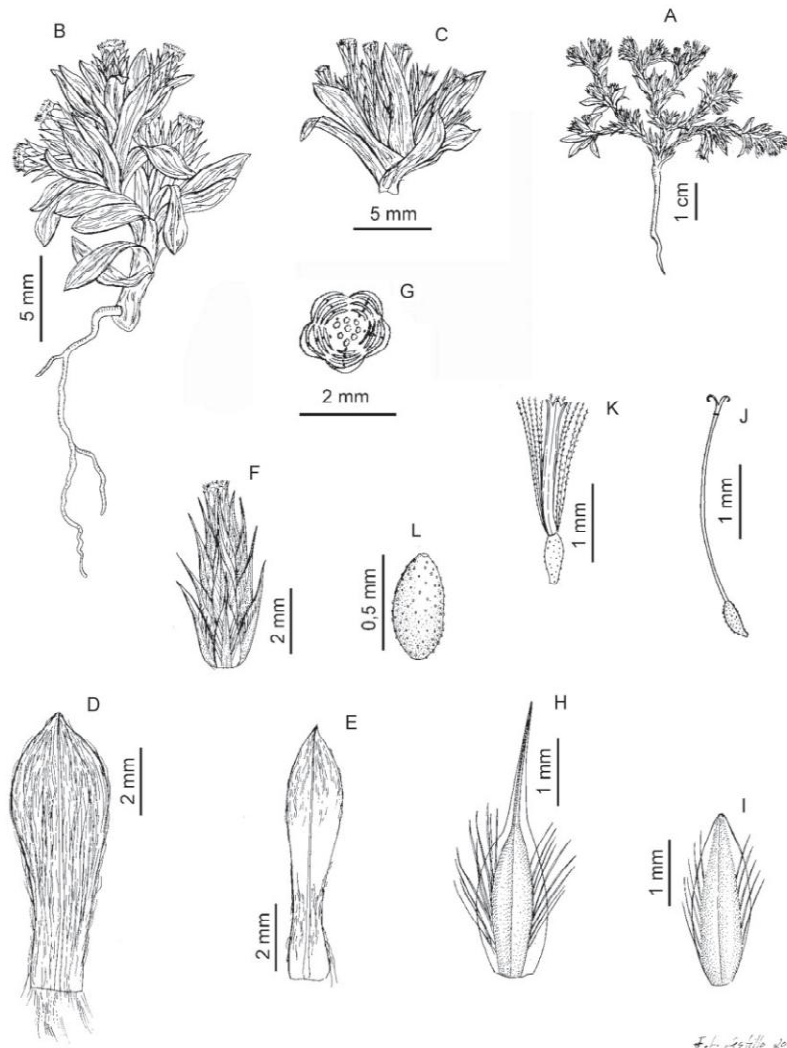


Figure 2. *Filago castroviejoii* from S. Andrés-Sánchez SA278 (SALA139218) (holotype): A, B, plant habit; C, cluster of capitula; D, stem leaf; E, involucrant leaf; F, capitulum; G, diagram of transverse section of the capitulum; H, external palea; I, internal paleae; J, external female floret; K, hermaphrodite floret; L, achene. Drawn by Juan Castillo.

Type: Holotype: Spain, Murcia, Monteagudo, castle, 3 802 196N–109 747W, 76 m, 25.iv.2009, *S. Andrés-Sánchez SA278 SALA139218!*; *isotype:* MA854757!

Description: Annual herbs, densely hairy, with eglandular, villose–tomentose, greyish to grey–whitish, adpressed indumentum. *STEMS* 0.7–16.5 cm, ascending to erect, unbranched or branched in the inflorescence, in this case arranged like to cymes: dichasium or pleochasium, rarely monochasium, sometimes branched from the base. *LEAVES* of the stem 5–24 × 1–4 mm, alternate, ±adpressed, oblanceolate to spathulate, entire, acute rarely obtuse, with a small scarios brownish mucro, flat to slightly undulate in the

margin, sessile; involucrant leaves seven to 13, 5–14 × 1–4 mm, similar length or longer than the capitula, oblanceolate to spathulate, entire, acute rarely obtuse, with a small scarios brownish mucro, margin straight to slightly undulate and flat to slightly involute. *INFLORESCENCE* in clusters, arranged like to cymes: dichasium or pleochasium, rarely monochasium, lax; clusters with four to 12 capitula, 8–13 mm in diameter, subglobose, contracted. *CAPITULA* 3–6 × 2–4 mm, disciform, heterogamous, sessile, pyramidal, with five strongly marked angles, glabrous or subglabrous. *INVOLUCRE* null *RECEPTACLE* clavate. *PALEAE* 25–30, 4–5 × 1–1.5 mm, arranged in five vertical rows with five or six paleae

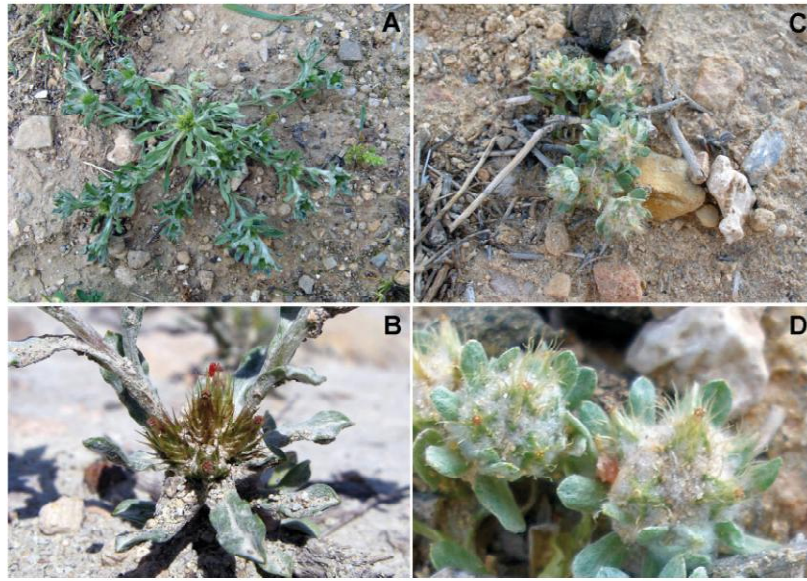


Figure 3. A, Habit of *Filago castroviejoii* in the field S. Andrés-Sánchez et al. SA149 (SALA134391). B, Cluster of capitula of *F. castroviejoii* S. Andrés-Sánchez et al. SA95 (SALA134350). C, Habit of *F. desertorum* A. Herrero et al. AH3933 (SALA 110201). D, Cluster of capitula of *F. desertorum* A. Herrero et al. AH3933 (SALA 110201).

per vertical row, patent in fruit, slightly concave, green with hyaline margin, sometimes purple at the tip, herbaceous in flower and scarious in fruit; external and medium ones, lanceolate to ovate, not enclosing a female floret placed in this axil, aristate with arista yellowish of 1–2 mm, with the abaxial face glabrous or subglabrous with few long hairs in the margin and the adaxial face glabrous; internal elliptic, surrounding together the internal florets, obtuse, green with hyaline margin, sometimes purple at the tip, with the abaxial face glabrous with hairs near the margin and the adaxial face glabrous. FLORETS heteromorphic; female florets, external in the axil of the paleae or internal together with the hermaphrodite ones surrounded by the internal paleae, corolla 3.0–3.5 mm long, filiform, whitish–yellowish, entire or slightly lacerated and reddish to brownish at the tip; external 20–25 eppapose; internal three to six pappose; hermaphrodite florets all internal, four to eight, fully fertile, corolla 2.5–3.5 mm long, tubular, whitish–yellowish, with four reddish teeth. ANTHERS with short basal appendages. ACHENES homomorphic, 0.8–1.0 × 0.3–0.4 mm, ellipsoid to cylindrical, slightly compressed dorsiventrally, with short clavate twin hairs. PAPPUS absent in external female florets; internal female florets and hermaphrodite ones with 12–16 white, scabrid, free bristles.

Iconography: The plant is illustrated in Figure 2; the habit and cluster of the capitula are shown in Figure 3A, B.

Genome size: Andrés-Sánchez et al. (2013c) estimated the genome size of *F. castroviejoii* (sub *F. desertorum*) as $2C = 1.3852 \pm 0.0074$ pg.

Phenology: Flowering from March to May (rarely in February).

Distribution: *Filago castroviejoii* is known from the south-eastern Iberian Peninsula (provinces of Albacete, Alicante, Murcia and Almería) and north-eastern Morocco (regions of Taza-Al Hoceima-Taounate and Oriental) (Fig. 4).

Ecology: The plants grow in open xerophytic or sub-desert areas, terophytic pastures generally ruderalized, fallow lands, road margins, cultures, salt marshes and dry riverbeds, preferably on basic (limestone or chalk) substrates. See also Andrés-Sánchez et al. (2013b) under *F. desertorum*.

Etymology: The species is posthumously dedicated to our friend and colleague Professor Santiago Castroviejo Bolibar, who was the coordinator of *Flora iberica* for a long time.

Observations: *Filago castroviejoii* has been frequently confused with *F. pyramidata* L. They usually grow together in the Iberian Peninsula and Morocco. In a superficial observation, they show a high proportion of morphological similarities, but *F. castroviejoii* has



Figure 4. Distribution map of *Filago castroviejoii*.

hairs near the margin of the internal paleae, whereas, in *F. pyramidata*, these paleae are glabrous. In addition, Galbany-Casals *et al.* (2010) demonstrated that they are not phylogenetically related.

Selected specimens examined: See Supporting Information, Fig. S4.

***FILAGO DESERTORUM* POMEL (FIG. 3B, C)**

Filago desertorum Pomel, *Nouv. Mat. Fl. Atlant.* 1: 46 (1874). *Filago spathulata* var. *desertorum* (Pomel) Batt. in Batt. & Trab., *Fl. Algérie (Dicot.)*: 441 (1889). *Filago germanica* var. *desertorum* (Pomel) Maire in Jahand. & Maire, *Cat. Pl. Maroc.* 3: 745 (1934).

Lectotype (designated by Wagenitz, 1968): ALGERIE. ‘Jebel Amour, El Abiod, Metlil, Pomel’ (MPU-MAIRE MPU004840!). Syntypes: P00084151 photograph!, MPU004838!, MPU004839!.

Filago spathulata var. *alexandrina* Bornm. in Feddes *Repert.* 18: 41 (1922). *Lectotype (designated here)*: EGYPT. ‘Alexandria, in arenosis maritimis ad Sidi-Gaber, 7.iv.1908, Bornmüller 10768 (B100094036 photograph!). Syntypes: B100094037 photograph!; P!; LD, E.

Filago spathulata f. *evaciformis* Bornm. in Feddes *Repert.* 18: 42 (1922). *Lectotype (designated here)*: EGYPT. ‘Alexandria, El Meks, Petry 14 (B100094039 photograph!). Syntype: B100094038 photograph!

Distribution: *Filago desertorum* is present in south-western Asia (from the Middle East to India), North

Africa (from Egypt to Morocco, but here restricted to the south of the Atlas mountain range) and the Canary Islands.

Ecology: The plants grow in open desert or sub-desert areas, ruderalized terophytic pastures, fallow lands, road margins, salt marshes and dry riverbeds, rocky outcrops, sandy places, preferably on basic (limestone or chalk) substrates.

Selected specimens examined: See Fig. S4.

***FILAGO MAREOTICA* DELILE**

Filago mareotica Delile, *Descr. Égypte, Hist. Nat.* 2: 274 (1813). *Micropus mareoticus* (Delile) Spreng., *Syst. Veg.* 3: 499 (1826). *Evax mareotica* (Delile) D.C., *Prodr.* 5: 459 (1836). *Evacopsis mareotica* (Delile) Pomel in *Bull. Soc. Bot. France* 35: 334 (1888). *Gifolaria mareotica* (Delile) Chrtek & Holub in *Preslia* 35: 10 (1963).

Lectotype (designated by Andrés-Sánchez *et al.*, 2011): figure 2, table 47 in Delile, *Descr. Égypte, Hist. Nat.* 2 (1813). *Epitype* (designated by Andrés-Sánchez *et al.*, 2011): EGYPT. ‘Alexandrie et du lac Mareotis’ (MPU-DELILE MPU007025!).

Gifolaria floribunda Pomel in *Bull. Soc. Bot. France* 35: 335 (1888). *Filago floribunda* Coss. & Kralik in L. Kralik, *Pl. Tunetanae Exsiccatae* (1854) nom. inval. *Filago mareotica* var. *floribunda* (Pomel) Maire in *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique N.* 26: 209 (1935). *Lectotype (designated here)*: TUNISIA. ‘In alluvie exsic-

cate Oued Gabes', 21.iv.1854, *L. Kralik Pl. Tunetanae* (MPU-MAIRE!). Syntype: K274246!

Filago mareotica var. *murcica* Maire in Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique N. 26: 209 (1935). Lectotype (**designated here**): SPAIN. 'in Hispaniae regno Murcico pr. Punta de Galindo, Guirao' (COI00035427!). Syntypes: W! (Halácsy collection), UPS photograph!, B!, COI-Willk COI00035426!, COI00035427!.

Distribution: South-eastern Spain, Cyprus and North Africa. See also Andrés-Sánchez *et al.* (2013b).

Ecology: Margins and open areas in salt marshes, loamy-salty hills and coastal dunes.

Selected specimens examined: See Fig. S4.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to J. Castillo for the careful elaboration of the drawings for Figure 2, which were extracted and kindly transferred from *Flora iberica*. Many thanks are also due to the curators of the herbaria mentioned in the Materials and Methods section. Finally, we are deeply grateful to Professor G. Wagenitz for helpful discussions on *Filago castroviejoi* and to Dr P. Garrido Rodríguez for translating the species diagnosis into Latin. This work fits within the project *Flora iberica* and was supported by the Spanish 'Ministerio de Economía y Competitividad' (<http://www.mineco.gob.es/>) through projects CGL2011-28613-C03-03 and CGL2012-32574.

REFERENCES

- Andrés-Sánchez S, Galbany-Casals M, Bergmeier E, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: further evidence of morphological homoplasy. *Plant Systematics and Evolution* **301**: 1653–1668.
- Andrés-Sánchez S, Galbany-Casals M, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed. Typification of several names. *Taxon* **60**: 572–576.
- Andrés-Sánchez S, Martínez-Ortega MM, Rico E. 2013a. Taxonomic revision of the genus *Logfia* (Asteraceae, Gnaphalieae) in the Mediterranean region. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* **70**: 7–18.
- Andrés-Sánchez S, Martínez-Ortega MM, Rico E. 2014. Revisión taxonómica del género *Bombycilaena* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Candollea* **69**: 55–63.
- Andrés-Sánchez S, Martínez-Ortega MM, Rico E. 2013b. Estudio corológico del género *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) en la Península Ibérica y Baleares. *Botanica Complutensis* **37**: 57–78.
- Andrés-Sánchez S, Tensch E, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2013c. Genome size in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: phylogenetic, evolutionary and ecological implications. *Plant Systematics and Evolution* **299**: 331–345.
- Bottini MCJ, Bustos A, Jouve N, Poggio L. 2002. AFLP characterization of natural populations of *Berberis* (Berberidaceae) in Patagonia, Argentina. *Plant Systematics and Evolution* **231**: 133–142.
- Castroviejo S (Coord. Gen.). 1986–2014. *Flora iberica*. Madrid: Real Jardín Botánico, CSIC.
- Cosson E, Kralik JL. 1857. Notes sur quelques plantes rares ou nouvelles de la régence de Tunis. *Bulletin de la Société Botanique de France* **4**: 280–281.
- Dice LR. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* **26**: 297–302.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin, Botanical Society of America* **19**: 11–15.
- Duminil J, Kenfack D, Viscosi V, Grumiau L, Hardy OJ. 2012. Testing species delimitation in sympatric species: the case of an African tropical tree, *Carapa* spp. (Meliaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **62**: 275–285.
- Earl DA, von Holdt BM. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* **4**: 359–361.
- El-Rabey HA, Badr A, Schäfer-Pregl R, Martin W, Salamini F. 2002. Speciation and species separation in *Hordeum* L. (Poaceae) resolved by discontinuous molecular markers. *Plant Biology* **4**: 567–575.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14**: 2611–2620.
- Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analysis under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**: 564–567.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**: 479–491.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2007. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes* **7**: 574–578.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783–791.
- Galbany-Casals M, Andrés-Sánchez S, García-Jacas N, Susanna A, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the '*Filago* group'

- (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* **59**: 1671–1689.
- Galbany-Casals M, Blanco-Moreno JM, Garcia-Jacas N, Breitwieser I, Smissen RD. 2011.** Genetic and morphological variation in the Mediterranean *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Plant Biology* **13**: 678–687.
- Hodkinson TR, Renvoize SA, Ni Chonghaile G, Stapleton CMA, Chase MW. 2000.** A comparison of ITS nuclear rDNA sequence data and AFLP markers for phylogenetic studies in *Phyllostachys* (Bambusoidea, Poaceae). *Journal of Plant Research* **113**: 259–269.
- Huson DH, Bryant D. 2006.** Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* **23**: 254–267.
- Kardolus JP, Van Eck HJ, Van den Berg R. 1998.** The potential of AFLPs in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* **210**: 87–103.
- Knijff P, Denkers F, van Swelm ND, Kuiper M. 2001.** Genetic affinities within the herring gull *Larus argentatus* assemblage revealed by AFLP genotyping. *Journal of Molecular Evolution* **52**: 85–93.
- Koopman WJM. 2005.** Phylogenetic signal in AFLP data sets. *Systematic Biology* **54**: 197–217.
- Lowe A, Harris S, Ashton P. 2004.** *Ecological genetics: design, analysis, and application*. Oxford: Blackwell Publishing.
- McNeill J, Barrie FR, Buck WR, Demoulin V, Greuter W, Hawksworth DL, Herendeen PS, Knapp S, Marhold K, Prado J, Prud'homme van Reine WF, Smith GE, Wiersema JH, Turland NJ (eds). 2012.** International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code). In: *Regnum Vegetabile*. Königstein: Koeltz Scientific Books, 154.
- Magauer M, Schönswetter P, Jang TS, Frajman B. 2014.** Disentangling relationships within the disjunctly distributed *Alyssum oviense*/*A. wulfenianum* group (Brassicaceae), including description of a novel species from the north-eastern Alps. *Botanical Journal of the Linnean Society* **176**: 486–505.
- Martínez-Ortega MM, Delgado L, Albach DC, Elena Rosselló JA, Rico E. 2004.** Species boundaries and phylogeographic patterns in cryptic taxa inferred from AFLP markers: *Veronica* subgen. *Pentasepalae* (Scrophulariaceae) in the Western Mediterranean. *Systematic Botany* **29**: 965–986.
- Meudt HM, Clarke AC. 2007.** Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science* **12**: 106–117.
- Nei M, Li WH. 1979.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **186**: 5269–5273.
- Paul S, Nandi SK, Palni LMS. 2013.** Assessment of genetic diversity and interspecific relationships among three species of *Podophyllum* using AFLP markers and podophyllotoxin content. *Plant Systematics and Evolution* **299**: 1879–1887.
- Pomel A. 1888.** Études sur des espèces barbaresques des types des *Evax* et des *Filago*. *Bulletin de la Société Botanique de France* **35**: 333–337.
- Prebble JM, Meudt HM, Garnock-Jones PJ. 2012.** Phylogenetic relationships and species delimitation of New Zealand bluebells (*Wahlenbergia*, Campanulaceae) based on analyses of AFLP data. *New Zealand Journal of Botany* **50**: 365–378.
- Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 945–959.
- Rohlf FJ. 2009.** *NTSYSpc: numerical taxonomy system. ver. 2.21c*. Setauket, NY: Exeter Software.
- Semerikov VL, Zhang H, Sun M, Lascoux M. 2003.** Conflicting phylogenies of *Larix* (Pinaceae) based on cytoplasmic and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**: 173–184.
- Smissen RD, Breitwieser I. 2008.** Species relationships and genetic variation in the New Zealand endemic *Leucogenes* (Asteraceae: Gnaphalieae). *New Zealand Journal of Botany* **46**: 65–76.
- Smissen RD, Breitwieser I, Ward JM. 2004.** Phylogenetic implications of trans-specific chloroplast DNA sequence polymorphism in New Zealand Gnaphalieae (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* **249**: 37–53.
- Swofford DL. 2003.** *PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), Version 4*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- Thiers B. 2014 (continuously updated).** *Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 16 December 2014).
- Turner TF, Trexler JC, Harris JL, Haynes JL. 2000.** Nested cladistic analysis indicates population fragmentation shapes genetic diversity in a freshwater mussel. *Genetics* **154**: 777–785.
- Van den Berg RG, Groendijk-Wilders N. 2007.** AFLP data support the recognition of a new tuber-bearing *Solanum* species but are uninformative about its taxonomic relationships. *Plant Systematics and Evolution* **269**: 133–143.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23**: 4407–4414.
- Wagenitz G. 1968.** *Filago desertorum* Pomel und *F. hurdwarica* (DC.) Wagenitz, zwei verkannte Arten der 'Filago germanica'-Gruppe aus Nordafrika, Vorder- und Zentralasien. *Willdenowia* **4**: 283–298.
- Wagenitz G. 1969.** Abgrenzung und Gliederung der Gattung *Filago* s.l. (Compositae, Inuleae). *Willdenowia* **5**: 395–444.
- Werres S, Marwitz R, Man in't Veld WA, De Cock AWAM, Bonants PJM, de Weerd M, Themann K, Ilieva E, Baayen RP. 2001.** *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. *Mycological Research* **105**: 1155–1165.

APPENDIX

Information on the samples of the species from the '*Filago desertorum* clade' included in the AFLP analysis. Voucher information is listed as follows: taxon name, country, locality, collector name and number, (herbarium). The names used in the analyses of the individuals are included in parentheses: the first letter indicates the species name (C for *F. castroviejoi*; D for *F. desertorum*; L for *F. lutescens* and M for *F. mareotica*); the first two numbers correspond to the population number (01 to 20); the last number indicates the individual within a particular population.

Filago castroviejoi Andrés-Sánchez, D. Gut. Larr., E. Rico & M. M. Mart. Ort. MOROCCO Oriental, Taurirt, north slopes of Narguechoum, Za river, Andrés-Sánchez *et al.* SA12 (SALA1353659!) (C101); Oriental, between Guercif and Saka, S. Andrés-Sánchez *et al.* SA157 (SALA134396!) (C121, C122, C123, C124); Oriental, between Oujda and the border with Algeria, S. Andrés-Sánchez *et al.* SA153 (SALA134395!) (C111, C112); Taza-Al Hoceima-Taounate, close to Tarhilest, S. Andrés-Sánchez *et al.* SA36 (SALA134366!) (C181, C182, C183, C184). SPAIN Alicante, Crevillente, road to Albacete, reservoir to Crevillente, S. Andrés Sánchez SA280 (SALA139167!) (C161, C162, C163, C164); Alicante, Aspe, Casa de la Monfortera, S. Andrés-Sánchez SA282 (SALA139168!) (C171, C172, C173, C174, C175); Almería, southern base of Filabres range, S. Andrés-Sánchez *et al.* SA95 (SALA134350!) (C191, C192, C193, C194); Almería, Tabernas, Llanos de Tabernas, close to Hospedería del Desierto, Carril de

Juan, S. Andrés-Sánchez SA270 (SALA139169!) (C131, C132, C133, C134, C135); Murcia, Puerto Lumbreras, road to Almendricos, S. Andrés Sánchez SA271 (SALA139170!) (C141, C142, C143, C144); Murcia, Monteagudo, castle, S. Andrés Sánchez SA278 (SALA139218!) (C151, C152, C153, C154, C155, C156).

Filago desertorum Pomel ALGERIA Bougtob, close to the village, M. M. Martínez Ortega *et al.* MO5508 (SALA110256!) (D081, D082, D083). SPAIN Canary Islands, Fuerteventura, between Tetir and La Matilla, M. M. Martínez Ortega *et al.* MO6010 (SALA142104!) (D061, D062, D063, D064, D065); Canary Islands, Fuerteventura, Tiscamanita, close to the village, S. Barrios *et al.* SB6 (SALA142102!) (D091, D092, D093); Canary Islands, Lanzarote, between Tías and Masdache, M. M. Martínez Ortega *et al.* MO6015 (SALA142099!) (D071, D072, D073, D074). TUNISIA Gabès, Matmata Mountains, road Matmata-Gabès, c. 1 km Matmata, C. Aedo *et al.* AH3767B (SALA110200!) (D031, D032, D033); Medenine, south of Zarzis, Slab el Gharbi, C. Aedo *et al.* CA16276 (SALA110189!) (D051, D052, D053); Jerid, Celada, Sidi Ben Arbes-Sidi Bouhleb, C. Aedo *et al.* AH3933 (SALA110201!) (D041, D042, D043).

Filago lutescens Jordan SPAIN Tarragona, La Conca de Barberá, Vimbodi-Poblet, Prade Mountains, S. Andrés-Sánchez *et al.* SA312 (SALA110199!) (L201, L202, L203, L204, L205).

Filago mareotica Delile SPAIN Alicante, Santa Pola, close Playa Lisa, M. Santos Vicente *et al.* MS487 (SALA134371!) (M021, M022, M023). TUNISIA Gabès, close Aouinette, C. Aedo *et al.* CA16179 (SALA139165!) (M011, M012, M013, M014, M015).

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's website:

Figure S1. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) phylograms of a neighbour-joining (NJ) analysis of pairwise Nei & Li distances among individuals of the *Filago desertorum* complex for the primer pair *EcoRI*-AGA(6-FAM)/*MseI*-CC; bootstrap values are shown.

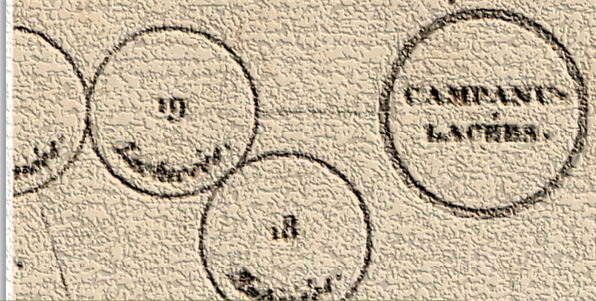
Figure S2. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) phylograms of a neighbour-joining (NJ) analysis of pairwise Nei & Li distances among individuals of the *Filago desertorum* complex for the primer pair *EcoRI*-ACT(6-FAM)/*MseI*-CTC; bootstrap values are shown.

Figure S3. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) phylograms of a neighbour-joining (NJ) analysis of pairwise Nei & Li distances among individuals of the *Filago desertorum* complex for the primer pair *EcoRI*-AGG(VIC)/*MseI*-CTC; bootstrap values are shown.

Figure S4. Selected specimens examined of *Filago castroviejoi*, *F. desertorum* and *F. mareotica*. Voucher information is listed as follows: taxon name, country, locality, collector name and number (herbarium).

TANIQUE.

Synanthérées.



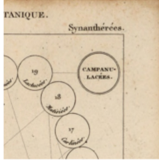
CAPÍTULO VII

Conclusiones



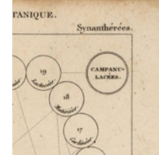
7.1. CONCLUSIONES

1. Se confirma la monofilia del *Inula complex* dentro del grupo natural Inuleae-Inulinae, así como el estatus parafilético de los géneros *Chrysophthalmum* Schp. Bip., *Inula* L. y *Pentanema* Cass. en su circunscripción tradicional, mediante un análisis filogenético basado en secuencias de ADN nuclear y plastidial.
2. Según los datos obtenidos, el género *Inula* se recupera en dos linajes independientes. El primer linaje está formado por *Inula helenium* L. -la especie tipo del género- que se agrupa en un clado junto con *Telekia speciosa* Baumg. y otros representantes asiáticos y africanos de *Inula*. El segundo linaje está formado por el resto de especies de *Inula* euroasiáticas, que son recuperadas junto con *Pentanema divaricatum* Cass. -la especie tipo del género *Pentanema*- en una posición más cercana al resto de géneros del *Inula complex* (i.e. *Chrysophthalmum*, *Carpesium* L., *Rantheriopsis* Rauschert).
3. Sobre la base de los resultados de los análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN y de los datos morfológicos obtenidos, se propone una nueva circunscripción para los géneros *Inula* y *Pentanema*, con el fin de obtener una clasificación basada en géneros monofiléticos.
4. Como consecuencia de la nueva delimitación de *Inula* y *Pentanema* y para preservar la monofilia de los géneros que componen el *Inula complex*, se proponen 22 nuevas combinaciones en *Pentanema*, una en *Monactinocephalus* Klatt y una en *Vicoa* Cass. Además, se recuperan los nombres *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch., *Monactinocephalus paniculatus* Klatt y *Vicoa indica* (L.) DC.
5. Se ha llevado a cabo un análisis de variabilidad y estructuración genética que incluye varias poblaciones de las especies de *Pentanema* incluidas en el "*Pentanema conyzae clade*", distribuidas en el Mediterráneo Occidental, utilizando un marcador hipervariable de huella genética tipo AFLP. Los datos obtenidos y tratados con métodos fenéticos y de análisis bayesiano de estructuración genética recuperan siete grupos que se corresponden con las siete especies bien establecidas tradicionalmente.
6. El análisis de fragmentos AFLP indican que en la formación de las especies de *Pentanema* distribuidas en el Mediterráneo Occidental han intervenido procesos de evolución reticulada. Así, los resultados sugieren que en el origen de las especies *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort y *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. et al. podrían estar implicados eventos de hibridación, de modo que ambas especies pueden ser consideradas aloploidos.
7. Se confirma la presencia de *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. et al. en la Península Ibérica y se aporta un nuevo paso de clave útil para distinguir *P. britannicum* de *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. et al., dos especies que han sido frecuentemente



confundidas entre sí. Además, tanto los datos morfológicos, como los derivados del análisis de AFLPs, sugieren el posible origen híbrido entre ambas especies de algunos ejemplares recolectados en una localidad de la Península Ibérica, lo que demuestra por primera vez la posibilidad de hibridación entre estas especies y puede explicar, al menos en parte, las citadas confusiones.

8. Se ha realizado una revisión morfológica de los integrantes del "*Filago desertorum clade*" que ha permitido diferenciar dos morfotipos dentro de la variabilidad de *F. desertorum* Pomel s.l., ambos con pelos en el margen de las paleas receptaculares internas. El primero –*F. desertorum* s.s.– tiene las paleas receptaculares externas vilosas-tomentosas, el capítulo ovado con cinco ángulos poco marcados, y se distribuye desde las Islas Canarias hasta Oriente próximo, exceptuando el norte del Atlas. El segundo –morfotipo *castroviejo*– muestra las paleas receptaculares externas de glabras a subglabras, el capítulo piramidal con cinco ángulos fuertemente marcados, y se distribuye en el SE de la Península Ibérica y el NO de Marruecos.
9. A fin de complementar el trabajo anterior, se ha efectuado un estudio de estructuración de la variabilidad genética basado en marcadores AFLP en el "*Filago desertorum clade*". Ello ha permitido reconocer tres entidades diferenciadas. Una de ellas se corresponde con muestras identificadas como *F. mareotica* Delile, otra con individuos correspondientes al morfotipo *F. desertorum* s.s. y la tercera con el morfotipo *castroviejo*.
10. Se concluye, sobre la base de los datos morfológicos y moleculares, que el morfotipo *castroviejo* debe ser reconocido como una entidad taxonómica independiente de *F. desertorum*. De acuerdo con ello se ha descrito la nueva especie *Filago castroviejo* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. **sp. nov.**
11. Se aporta un tratamiento taxonómico para *F. castroviejo*, *F. desertorum* y *F. mareotica*, que incluye una clave de identificación y una revisión nomenclatural completa, en el que, además, se tipifican cuatro nombres (*F. spathulata* var. *alexandrina*, *F. spathulata* f. *evaciformis*, *Gifolaria floribunda* y *F. mareotica* var. *murcica*).
12. Se ha explorado la posición filogenética dentro del género *Filago* de dos especies distribuidas en el Norte de África, poco conocidas, y no incluidas en análisis moleculares anteriores, *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter y *Filago prolifera* Pomel, mediante el análisis de secuencias del ADN ribosómico nuclear y plastidial. Según los resultados obtenidos, ambas especies se encuadran en el "*Filago desertorum clade*".
13. Se aportan descripciones completas para *F. longilanata* y *F. prolifera*, junto con un tratamiento nomenclatural, las primeras iconografías de dichas especies y mapas de distribución de nueva elaboración, que incluyen localidades en las que crecen estas plantas que previamente no eran conocidas.

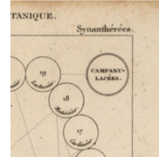


14. Se han descrito y optimizado nuevos marcadores moleculares con suficiente resolución como para poder desentrañar en el futuro las relaciones filogenéticas existentes entre los grupos que componen *Filago* L. subg. *Filago*. Se han desarrollado diez pares de cebadores correspondientes a regiones de tipo microsatélite para el género *Filago* en las especies *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva, *F. carpetana* (Lange) Chrtek & Holub y *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany, y se ha comprobado su transferibilidad en 24 muestras correspondientes a 8 especies representativas de los otros tres subgéneros de *Filago*



7.2. CONCLUSIONS

1. The molecular phylogenetic analyses based on nuclear and plastid DNA sequences confirm the monophyletic status of the *Inula complex* within the Inuleae-Inulinae lineage. The genera *Chrysophthalmum* Schp. Bip., *Inula* L. and *Pentanema* Cass. are paraphyletic in their traditional circumscription.
2. According to the obtained data, the genus *Inula* is recovered in two independent lineages. One is composed of *Inula helenium* L. –type species of *Inula*– which is placed in one clade together with *Telekia speciosa* Baumg. and other representatives of *Inula* from Asia and Africa. The second lineage is composed of the remaining euroasiatic species of *Inula*, which are recovered together with *Pentanema divaricatum* Cass. –type species of *Pentanema*– in a closer position to other genera of the *Inula complex* (i.e. *Chrysophthalmum*, *Carpesium* L., *Rantheriopsis* Rauschert).
3. New delimitations of the genera *Inula* and *Pentanema* are proposed on the basis of the obtained molecular and morphological data.
4. As a result of the newly circumscribed genera *Inula* and *Pentanema*, 24 new combinations in *Pentanema* are proposed, one in *Monactinocephalus* Klatt and one in *Vicoa* Cass. along with the resurrection of the names *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch., *Monactinocephalus paniculatus* Klatt and *Vicoa indica* (L.) DC.
5. The interspecific genetic variability and structure of the species belonging to the “*Pentanema conyzae* clade” distributed in the Western Mediterranean area is investigated through AFLP fingerprinting. Seven groups are recovered, which are in accordance with seven traditionally well-established species.
6. Reticulate evolutionary patterns seem to be involved in the origin of the species belonging to the “*Pentanema conyzae* clade” distributed in the Western Mediterranean area. The origin of the species *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. and *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.* could have been promoted by hybridization events and both species could be considered allopolyploids.
7. The occurrence of the species *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.* in the Iberian Peninsula is confirmed for the first time. A key to a couple of frequently misidentified species, *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. *et al.* and *P. britannicum*, is provided. Hybridization between both species is demonstrated by morphological and genetic data.
8. Two morphotypes within the morphological variability of *F. desertorum* Pomel *s.l.*, –both with hairs at the margin of the internal paleae– are detected. Morphotype *F. desertorum s.s.* shows villose-tomentose external paleae and ovate capitula with five slightly marked angles; it grows in south-western Asia, North Africa (to the

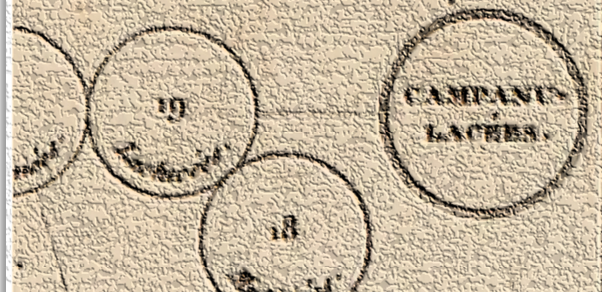


south of the Atlas mountains) and Canary Islands. On its side, morphotype *castroviejoii* shows glabrous to subglabrous external paleae and pyramidal capitula with five strongly marked angles, and grows in the Iberian Peninsula and north-eastern Morocco (to the north of the Atlas mountains).

9. Three different entities were recognized within the "*Filago desertorum* clade" using AFLP fingerprinting analysis. The first one corresponds with samples identified as *F. mareotica* Delile, the second one with samples corresponding to morphotype *F. desertorum* s.s., and the third one with samples belonging to morphotype *castroviejoii*.
10. According to the results of the genetic and morphological analyses, morphotype *castroviejoii* should be considered an independent species from *F. desertorum*. This, a new species is described: *Filago castroviejoii* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. **sp. nov.**
11. A taxonomic treatment with a species key and a complete nomenclatural revision for the species *F. castroviejoii*, *F. desertorum* y *F. mareotica* are provided. Also the typification of four names (*F. spathulata* var. *alexandrina*, *F. spathulata* f. *evaciformis*, *Gifolaria floribunda* y *F. mareotica* var. *murcica*) were included.
12. The phylogenetic position of two insufficiently known species of the genus *Filago* distributed in North Africa and not included in former analyses, i.e., *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter and *Filago prolifera* Pomel is investigated through phylogenetic analyses of ribosomic and plastid DNA sequences. Both species are found to be included into the "*Filago desertorum* clade".
13. Complete descriptions, a nomenclatural treatment, and the first iconographies and distribution maps for *F. longilanata* and *F. prolifera* are presented.
14. Ten pairs of microsatellite primers are identified and optimized on *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva, *F. carpetana* (Lange) Chrtek & Holub and *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany. The new developed markers will be useful to go deeper into the phylogenetic relationships among the taxa within *Filago* L. subg. *Filago*. Transferability is performed in 24 samples corresponding to eight representative species of three other subgenera of *Filago*.

TANIQUE.

Synanthérées.



APÉNDICES

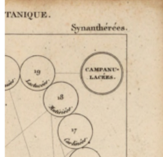


136 . *Inula* L. *

[*Inula*, del griego, f. – gr. *inaein* = limpiar, purgar. Relacionado con las propiedades medicinales de ciertas especies del género

Hierbas perennes, más raramente bienales –anuales o arbustos en especies extraibéricas–, en general rizomatosas, con rizoma horizontal, inermes, de casi glabras a pelosas, con indumento variado de pelos tectores pluricelulares, ensanchados en la base, glándulas de sésiles a cortamente pediceladas en general poco manifiestas. Tallos erectos o cortamente ascendentes, por lo común ramificados al menos en la parte superior. Hojas alternas, a menudo las basales aproximadas a modo de roseta, de linear-lanceoladas –ensiformes o casi lineares en especies extraibéricas– a ovadas, de enteras a serrado-crenadas, obtusas o agudas, sésiles o largamente atenuadas en un pecíolo, con la base de cuneada a amplexicaule o decurrente, con pelos tectores y/o glándulas, más raramente glabras. Sinflorescencia corimbiforme, ocasionalmente un solo capítulo por pie de planta. Capítulos radiados aunque a veces con las lígulas con limbo cortísimo y poco manifiestas –disciformes en especies extraibéricas–, heterógamos –homógamos en especies extraibéricas–, en general pedunculados, raramente sésiles, de pocos a numerosos, rara vez uno solitario terminal. Involucro hemisférico o \pm campanulado; brácteas dispuestas en varias series irregulares, imbricadas, en general desiguales, enteras o irregularmente dentadas, de lineares a anchamente ovadas, agudas o muy raramente obtusas, en ocasiones acuminadas o alesnadas, cilioladas o no en el margen, glabras o con indumento de pelos tectores y/o glándulas en el dorso; las externas erectas o patentes, con el ápice en ocasiones ligeramente recurvado, herbáceas en su mayor parte, a menudo endurecidas y coriáceas hacia la base, sin margen escarioso o con este estrecho; las internas erectas, \pm coriáceas en gran parte, sin margen escarioso o con este estrecho. Receptáculo plano o \pm convexo, alveolado, con las paredes de los alvéolos apenas salientes, en general glabro o a veces fimbriado-glanduloso, sin páleas. Flores externas liguladas, femeninas; corola tridentada, de algo más corta a claramente más larga que el involucro, de un amarillo vivo, a veces con tonos purpúreos, por la cara abaxial con glándulas \pm abundantes, en ocasiones además con pelos tectores, rara vez glabras. Flósculos hermafroditas; corola quinqueentada, de un amarillo vivo, a veces con tonos purpúreos, con glándulas \pm abundantes en la cara abaxial de los dientes o cerca de estos, excepcionalmente glabras. Anteras caudadas, con dos apéndices basales filiformes, laciniados, blanquecino-hialinos. Estilo no engrosado; ramas estilares de anchura similar al estilo, obtusas, con papilas poco manifiestas. Aquenios homomorfos, \pm oblongoides, cilíndricos o \pm prismáticos, no o apenas comprimidos, truncados o ligeramente contraídos en el ápice, con costillas longitudinales \pm netas, glabros o pelosos, con pelos tectores blanquecinos patentes o más frecuentemente antrorsos y \pm adpresos, bien en toda su superficie o sólo en la mitad superior, muy raramente con glándulas dispersas en el tercio superior, parduzcos; hilo cárpico central y \pm circular. Vilano con pelos antrorso-escabridos, dispuestos todos en una fila o a veces algunos aislados más internos, libres o soldados en la base.

* M. Santos-Vicente, D. Gutiérrez-Larruscaín, M.M. Martínez-Ortega & E. Rico



Observaciones.—Género que en su circunscripción más tradicional, que aún seguiremos en esta flora, incluye unas 100 especies por las zonas templadas y cálidas del Hemisferio Norte, con especies autóctonas en Europa, Asia, África, y algunas naturalizadas en Norteamérica. Sin embargo, según ese concepto tradicional, amplio, el género es parafilético, tanto considerando caracteres morfológicos [cf. A.A. Anderberg in *Plant Syst. Evol.* 176: 75-123 (1991)] como moleculares [cf. M. Englund & al. in *Cladistics* 25: 319-352 (2009); S. Nylander & A.A. Anderberg in *Taxon* 64: 110-130 (2015); D. Gutiérrez-Larruscaín & al. in *Taxon* 67]. Por ello, la delimitación del género es controvertida y está siendo revisada en estos últimos años para poder establecer géneros monofiléticos. Esto afectará a las especies ibéricas, entre las cuales, y también en el conjunto de las europeas, la más desviante, tanto en lo morfológico como en las filogenias moleculares, es *I. helenium*. Esta especie queda claramente separada de las otras especies ibéricas y los diferentes datos apoyan su consideración como un género independiente, algo que ya hizo F.V. Mérat, *Nouv. Fl. Env. Paris*: 328 (1812), al proponer un género nuevo, *Corvisartia*, para esta especie; las restantes especies permanecían en el género *Inula*. Pero *I. helenium* es la especie tipo del género *Inula* [cf. M. Santos-Vicente & al. in *Taxon* 61: 1330-1331 (2012)], por lo que para poder mantener el resto de las especies bajo *Inula* se propuso la conservación de este nombre con un tipo conservado (c.f. M. Santos-Vicente & al., loc. cit.). La propuesta fue rechazada por el Comité de Nomenclatura de Plantas Vasculares [cf. W.L. Applequist in *Taxon* 62: 1315-1326 (2013)] y las restantes especies, en el caso de que se consideren de un género diferente, deberán serlo bajo otro nombre. Según la filogenia más reciente y profunda del complejo de *Inula* y géneros afines (c.f. D. Gutiérrez Larruscaín & al., loc. cit.), todas las especies ibéricas, salvo *I. helenium*, deben ser transferidas al género *Pentanema* Cass. No obstante, mantenemos todavía en esta flora la circunscripción amplia y más tradicional de *Inula*, aun a sabiendas de que el género es parafilético y de que si se proponen y aceptan de manera general géneros monofiléticos de menor tamaño, la mayoría de las especies ibéricas quedarán incluidas en el mencionado género *Pentanema*; por esta razón, en la sinonimias se han incluido ya las combinaciones correspondientes bajo este último género. Números básicos propuestos $x = 8, 10$.

En el género, y con base exclusivamente morfológica, se han descrito y nombrado varios híbridos [cf. G. Beck, *Europ. Inula-Art.*: 22 (1882)]. En el territorio de la Flora también se han descrito algunos, en su mayoría relacionados con *I. helenioides* (véanse las observaciones en esta especie), pero que después del estudio morfológico de los tipos consideramos que o bien son especies independientes o pueden ir a la sinonimia de otras.

La medida del diámetro del capítulo incluye las flores liguladas. El indumento, en particular el de las flores liguladas y el glandulífero de las brácteas, ha de observarse con lupa binocular. No deben confundirse las glándulas subsésiles con los tubérculos que se encuentran en la base de los pelos tectores y que quedan cuando el resto del pelo se desprende.

Bibliografía.- G. BECK, *Europ. Inula-Art.* (1882); V. BORBÁS in *Bot. Jahrb. Syst.* 8: 222-243 (1887).

1. Brácteas externas del involucre de 4,5-14,5 mm de ancho, de ovado-lanceoladas a anchamente ovadas; aquenios 3-5 mm; hojas basales ovado-elípticas, de 20-80 x 6-25 cm; capítulos de (50)60-80 mm de diámetro vilano con pelos soldados en la base **1. I. helenium**



- Brácteas externas del involucre hasta de 4,2 mm de ancho, de lineares a ovado-lanceoladas; aquenios hasta de 3 mm; hojas basales de linear-lanceoladas a ovado-lanceoladas o elípticas, de 2-25 x 0,4-6(8) cm; capítulos de 4-55 mm de diámetro vilano con pelos libres o ligeramente soldados en la base 2
- 2. Lígulas al menos de (8)10 mm, que sobrepasan en más de (3)5 mm las brácteas del involucre 3
- Lígulas hasta de 12(15) mm, que no sobrepasan las brácteas del involucre o que las sobrepasan en menos de 3(5) mm 7
- 3. Hojas ± coriáceas, ciliadas en el margen, glabras o rara vez glabrescentes por el haz, de glabras a esparcidamente vilosas por el envés; aquenios glabros **3. I. salicina**
- Hojas no coriáceas, no ciliadas en el margen, de glabras a lanosas por el haz, de esparcidamente vilosas a lanosas por el envés; aquenios en general pelosos, raramente glabros 4
- 4. Hojas concentradas sobre todo hacia la base, disminuyendo de tamaño bruscamente de la base al ápice de la planta, las caulinares cuneadas; capítulo en general solitario, en ocasiones además 2-3 que apenas se desarrollan; aquenios con pelos en toda su superficie **6. I. montana**
- Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, las caulinares cuneadas o semiamplexicaules; capítulos (1)2-40; aquenios glabros o con pelos 5
- 5. Hojas caulinares cuneadas en la base; aquenios con escasos pelos en la mitad superior o a veces glabros **2. I. helvetica**
- Hojas caulinares de redondeadas a cordiformes en la base, al menos la superiores semiamplexicaules; aquenios en general con pelos en toda su superficie, a veces con pelos en la mitad superior o excepcionalmente glabros 6
- 6. Corola de los flósculos de (4)4,5-6,2(7,2) mm; lígulas sin pelos; brácteas externas reflejas o patentes al menos en su mitad superior; hojas en general verdes, o en ocasiones verde-grisáceas, y de glabras a esparcidamente vilosas o pubescentes por el haz; hojas del medio del tallo (4)6-11 veces más largas que anchas; brácteas internas del involucre con el margen con glándulas y a veces con algunos pelos largos irregularmente dispuestos, muy rara vez con pelos rígidos ± antrorso-aplicados **4. I. britannica**
- Corola de los flósculos de 6-9 mm; lígulas en general con pelos en la cara abaxial, al menos en la base del limbo, ocasionalmente sin ellos; brácteas externas de erectas a patentes; hojas de verde-grisáceas a grisáceo-blancuecinas y de esparcida a densamente vilosas por el haz; hojas del medio del tallo de 2-7 veces más largas que anchas; brácteas internas del involucre con el margen en general con abundantes pelos rígidos ± antrorso-aplicados, acompañados o no de glándulas **5. I. helenioides**
- 7. Hojas caulinares, al menos las medias, claramente decurrentes; planta viscosa, con abundantes glándulas cortamente pediceladas y bien visibles **9. I. bifrons**



- Hojas caulinares no decurrentes; planta no viscosa, sin glándulas o con ellas sésiles o subsésiles y poco manifiestas 8
8. Lígulas (8)9-12(15) mm, que sobrepasan ligeramente las brácteas del involucre, hasta en 3(5) mm; flósculos con corola de 7-10 mm; capítulos anchamente cilíndricos o subhemisféricos
- 7. I. langeana**
- Lígulas 4,5-6(7) mm, que no sobrepasan las brácteas del involucre; flósculos con corola de 5-6,2 mm; capítulos cilíndricos **8. I. conyzae**

1. I. helenium L., Sp. Pl.: 881 (1753)

[helénium]

subsp. **helenium**

Aster helenium (L.) Scop., Fl. Carniol. ed. 2, 2: 171 (1772)

Corvisartia helenium (L.) Mérat, Nouv. Fl. Env. Paris: 328 (1812)

Aster officinalis All., Fl. Pedem. 1: 194 (1785)

Aster helenium (L.) Moench, Methodus: 601 (1794), nom. illeg.

I. anthelmintica Salisb., Prodr. Stirp. Chap. Allerton: 201 (1796), nom. illeg.

I. grandiflora Gray, Nat. Arr. Brit. Pl. 2: 463 (1821), non Willd., Sp. Pl. 3(3): 2096 (1803), nom. illeg.

Helenium officinale (L.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 343 (1891)

I. campana Garsault, Fig. Pl. Med. 1: 257 (1764)

Ind. loc.: "Habitat in Anglia, Belgio" [lectotipo designado por A.A. Anderberg in Regnum Veg. 127: 57 (1993): LINN 999.1]

lc.: Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 30, n°lám. 921 (1853) [sub *Corvisartia helenium*]; Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur. ed. 3, 6(3): 167, fig. 72 (1979); A.R. Clapham, Tutin & E.F. Warburg, Fl. British Isles Ill. 3: 79 fig. 1323 (1963); lám. 1

Hierba perenne, robusta, rizomatosa, con rizoma muy robusto, de tomentosa a vilosa, con pelos tectores pluricelulares de 0,2-1 mm y glándulas sésiles o subsésiles. Tallos 60-200(250) cm, de 3,5-10 mm de diámetro, erectos, ramificados en la parte superior, de tomentosos a vilosos. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, no coriáceas, irregularmente dentadas, con nervadura reticulada prominente, agudas, rara vez cortamente acuminadas, ± verdes y rudas y esparcidamente pubescentes con pelos tectores --que se rompen y caen fácilmente— y alguna glándula aislada por el haz, grisáceas y de tomentosas a ± densamente tomentosas con pelos tectores y algunas glándulas gruesas por el envés; las basales 20-80 x 6-25 cm, ovado-elípticas, atenuadas en un largo pecíolo de 4-35 cm, en general verdes en la antesis; las caulinares 3-37 x 1-20 cm, ovado-lanceoladas u ovadas, sésiles, semiamplexicaules. Sinflorescencia con 4-20 capítulos dispuestos en cima corimbiforme laxa. Capítulos de (50)60-80 mm de diámetro, pedunculados, con pedúnculos de 30-150 mm. Involucre 12-32 mm, de (15)20-45 mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas 9,5-27 x 4,5-16 mm, patentes o erecto-patentes, de ovado-lanceoladas a anchamente ovadas, enteras o irregularmente dentadas, subotusas, herbáceas, ± foliáceas, en ocasiones con estrecho margen escarioso en el tercio inferior, de tomentosas o densamente tomentosas; las internas (10)12-25 x 1-4 mm, erectas, de linear-lanceoladas a lanceoladas, denticuladas, agudas o subobtusas, herbáceas en parte, ± coriáceas en el resto y con margen



escarioso \pm ancho hialino o parduzco, con pelos tectores rígidos \pm antrorso-aplicados dispuestos de manera irregular en el margen, ciliolado-antrorsas en el margen, de casi glabras a laxamente tomentosas en el dorso. Flores liguladas (40)50-80(100) por capítulo, corola de 20-30(40) mm, sobrepasando claramente –hasta en 25 mm– al involucro, en general con tricomas glandulíferos minúsculos en la cara abaxial del limbo y a veces también en el tubo. Flósculos con corola de 9-12 mm, con tricomas glandulíferos esparcidos y más abundantes en los dientes. Aquenios 3-5 mm, \pm prismáticos, no contraídos en el ápice, glabros. Vilano 7-10 mm, con (40)50-80 pelos soldados en la base. $2n = 20$; $n = 10^*$.

Herbazales más o menos húmedos, prados de siega, bordes de cursos de agua y orlas de bosque, en todo tipo de substratos; 450-1520 m. (IV)VII-IX. Autóctona probablemente sólo en el SE de Europa y SW y C de Asia, pero naturalizada por otras zonas del W, C y N de Europa (hasta Escandinavia), Norteamérica y Nueva Zelanda, posiblemente a partir de su cultivo como planta medicinal u ornamental. Dispersa por la mitad septentrional de España peninsular, salvo en el NW. **Esp.:** [B] [Bu] [(Cs)] [Cu] [Ge] [Hu] [L] [Le] [M] [Na] [O] [S] [Sg] [So] [Te] [Va] [Vi] [Za]. **N.v.:** ala, alaní, campana, el-ala, enula, énula, enula campana, énula campana, ínula, helenio, hierba campana, hierba de la campana, hierba del ala, hierba del moro, inula campana, raíz del moro, yerba campana, yerba del moro; **port.:** énula-campana, ínula-campana; **cat.:** ala, ala de corb, alada, arnica, arrel de campana, campana, enola, énola, énula, énula campana, herba campana, hèrba de l'ala, hèrba del mal estrany, ínula; **eusk.:** egorri, kristo-lora, usteltxa.

2. *I. helvetica* Weber, Pl. Min. Cogn. Diss.: 17 (1784)

[helvética]

Aster vaillantii All., Fl. Pedem. 1: 196 (1785)

I. vaillantii (All.) Vill., Hist. Pl. Dauphiné 3: 216 (1788)

Helenium vaillantii (All.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 343 (1891)

I. cinerea Chaix, Pl. Vap.: 66 (1785)

I. halleri Vill., Fl. Delph. 97 (1786)

I. cinerea Lam., Encycl. 3: 259 (1789), nom. illeg.

I. ramosissima Clairv., Man. Herbor. Suisse: 244 (1811)

I. vaillantii var. *brevifolia* Willk. & Costa in Willk. in Linnaea 30: 107 (1859)

I. helvetica var. *brevifolia* (Willk. & Costa) O. Bolòs & Vigo in Collect. Bot. (Barcelona) 17: 90 (1988)

I. squarrosa sensu Willk. in Willk. & Lange, Prodr. Fl. Hispan. 2: 43 (1865), p.p., non L., Sp. Pl. ed. 2, 2: 1240 (1763)

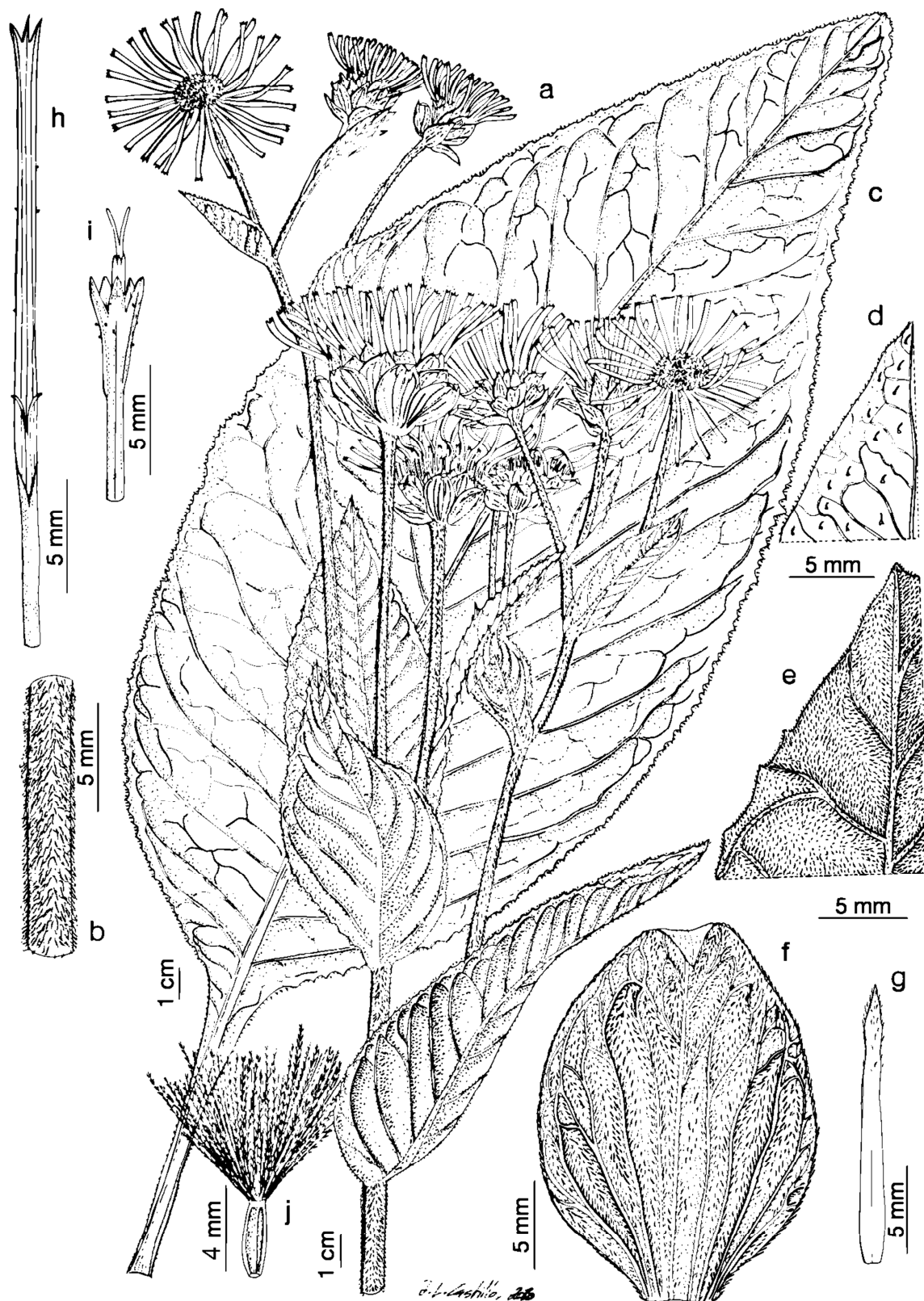
I. visianii Rouy, Fl. France 8: 202 (1903)?

Pentanema helveticum (Weber) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67

Ind. loc.: "Habitat in Helvetia"

lc.: Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur. ed. 3, 6(3): 169, fig. 73 d-f (1979); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 39, n° 930 II, 5-8 [sub *I. vaillantii*] (1853)

Hierba perenne, rizomatosa, con rizoma \pm delgado, de puberulenta a tomentosa, con pelos tectores pluricelulares de 0,1-3 mm y glándulas sésiles o subsésiles. Tallos 30-100 cm, de 3-6 mm de diámetro, erectos, ramificados en la parte superior, de pubescentes a tomentosos. Hojas dispuestas a lo largo del todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, no coriáceas, en general de denticuladas a serruladas, a veces las apicales enteras, de lanceoladas a elípticas, con nervadura reticulada poco prominente,



Lám. 1.—*Corvisartia helenium* subsp. *helenium*, Abejar, Soria (SALA 135423): a) inflorescencia; b) indumento del tallo; c) hoja basal; d) indumento foliar, por el haz; e) indumento foliar, por el envés; f) bráctea involucrel externa; g) bráctea involucrel interna; h) flor flosculosa (hermafrodita); i) flor ligulada (femenina); j) aquenio



agudas –en ocasiones las jóvenes obtusas–, a veces acuminadas, sésiles o con un pecíolo muy corto, hasta de 0,5 mm, cuneadas, no decurrentes, no ciliadas, ± verdes y de suglabras o puberulentas a pubescentes o esparcidamente vilosas con pelos tectores por el haz, grisáceas y ± tomentosas

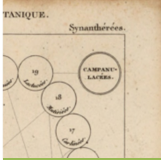
con pelos tectores y glándulas gruesas por el envés; las basales 4-11,5 x 1-2,5 cm ; las caulinares (0,9)2-10 x (0,2)0,5-2,5 cm. Sinflorescencia con (3)8-40 capítulos dispuestos en cima corimbiforme laxa. Capítulos de 18-25 mm de diámetro, cortamente pedunculados, con pedúnculos de 5-30 mm. Involucro (5)8-12 mm, de 7-12 mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas 3,5-9 x 1-3(4,2) mm, de patentes a erectas, ovado-lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en su mayor parte, de pubescentes a tomentosas, con pelos tectores y a menudo glándulas; las internas 4,5-10 x 0,6-1,2(1,8), erectas, de lineares o ensiformes a lanceoladas, enteras, de agudas a alesnadas, ± herbáceas y con margen escarioso de hialino a pardo, con algunos pelos tectores rígidos ± antrorso-aplicados o algunas glándulas en el margen, en el dorso de glabras a ligeramente pubescentes con pelos tectores y a menudo glándulas. Flores liguladas 30-40 por capítulo, corola de (8)12-14 mm, sobrepasando ± claramente –(3)4-8 mm– al involucro, glabras o rara vez con escasos tricomas glandulíferos minúsculos en la cara abaxial. Flósculos con corola de 5-9 mm, con o sin tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios 1,6-2(2,5) mm, ± cilíndricos, en ocasiones levemente contraídos en el ápice, aquenios con algunos pelos tectores de patentes a antrorsos y adpresos, en la mitad superior, o a veces glabros. Vilano 6-7 mm, con 28-50 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 16$.

Bosques de ribera, herbazales húmedos, bordes de cursos de agua, cunetas húmedas, trampales, pedregales en zonas húmedas, principalmente sobre substratos básicos; 30-1900 m. (VI)VII-IX(X). SW de Europa, desde el SE de España al SW de Alemania y Suiza. Dispersa por CN, NE y puntualmente SE (Sierra de Cazorla) de la Península. **And. Esp.:** B Bi Bu (Cs)? Cu Ge Gu Hu J L Lo (Na) Vi.

3. *I. salicina* L., Sp. Pl.: 882 (1753)

[salicína]

- Aster salicinus* (L.) Scop., Fl. Carniol. ed. 2, 2: 172 (1772)
Aster rigidus Moench, Suppl. Meth.: 251 (1802), nom. illeg.
Pulicaria salicina (L.) J. Presl & C. Presl, Fl. Cěch.: 178 (1819)
Conyza salicina (L.) Rupr., Fl. Ingr.: 568 (1860)
I. lucens Dulac, Fl. Hautes-Pyrénées: 516 (1867), nom. illeg.
Helenium salicinum (L.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 343 (1891)
Jacobaea salicina (L.) Merino, Fl. Galicia 2: 338 (1906)
I. aspera Poir. in Lamarck, Encycl. Suppl. 3: 154 (1813)
I. salicina var. *aspera* (Poir.) Beck, Europ. Inula-Art.: 22 (1882)
I. salicina subsp. *aspera* (Poir.) Hayek in Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 30(2): 602 (1931)
I. salicina var. *latifolia* DC., Prodr. 5: 466 (1836)
I. salicina f. *latifolia* (DC.) Beck, Europ. Inula-Art.: 23 (1882)
I. cordata Boiss., Diagn. Pl. Orient. ser. 1, 4: 3 (1844)
I. hirta var. *glabrescens* St. Lager in Cariot, Étude Fl. ed. 2: 477 (1854)
I. salicina raza *bethurica* Rivas-Goday & Ladero, nom. nud., in sched. [MAF 73922! VAL 134662! GDA 6508!]
I. salicina f. *bethurica* Rivas-Goday & Ladero, nom. nud., in sched. [MAF 73923!]
I. hirta auct. hisp., non L., Sp. Pl.: 883 (1753)
I. semiamplexicaulis sensu Willk. in Willk. & Lange, Prodr. Fl. Hispan. 2: 44 (1865), p.p., non Reut. in Mém. Soc. Phys. Genève 7: 169 (1836)



I. salicina var. *merinoi* Lainz in Brotéria, Sér. Bot. 24: 136 (1955)

Pentanema salicinum (L.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67

Ind. loc.: "Habitat in Europae borealis pratis uliginosis, asperis" [lectótipo designado por A.A. Anderberg in Taxon 47: 363 (1998); LINN 999.25]

lc.: Fiori & Paol., Iconogr. Fl. Ital. ed. 3: 446 fig. 3561 (1933); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 37, nº 928 I y II, 1-6 (1853).

Hierba perenne, rizomatosa, con rizoma delgado, en general de glabra a esparcidamente vilosa, con pelos tectores pluricelulares de 0,2-1,5 mm, con glándulas subsésiles muy escasas. Tallos 15-80 cm, de 0,8-3 mm de diámetro, erectos o cortamente ascendentes, simples o ramificados en la parte superior, en general de esparcidamente vilosos a vilosos, en ocasiones glabros –sobre todo en la parte superior. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, ± coriáceas, regularmente denticuladas o a veces con algunos dientes más grandes distanciados, de linear-lanceoladas a oblongo-ovadas, con nervadura reticulada prominente, agudas, en ocasiones acuminadas, sésiles, cordatas y semiamplexicaules en la base, más raramente redondeadas o las superiores atenuadas, ciliadas y ásperas en el margen, verdes por ambas caras, glabras o rara vez glabrescentes por el haz, esparcidamente vilosas o glabrescentes con pelos tectores al menos en los nervios, excepcionalmente glabras, por el envés; las basales 2,3-11 x 0,6-3,2 cm; las caulinares 0,6-8,4 x 0,2-2,8(4) cm. Sinflorescencia con 1-8(20) capítulos dispuestos en cima corimbiforme laxa. Capítulos de 15-50 mm de diámetro, en general pedunculados, con pedúnculos de (5)20-150 mm, rara vez sésiles. Involucro 6-13 mm, de 10-20(30) mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas 3,2-9,6(11) x 1,3-3,4 mm, de patentes a erectas, rara vez algunas reflejas, de lanceoladas a ovado-lanceoladas, enteras o denticuladas en la mitad superior, agudas o a veces acuminadas, herbáceas en su mayor parte, las más externas a menudo foliáceas, ciliadas en el margen, en el dorso de glabras a esparcidamente vilosas, con pelos tectores y en ocasiones algunas glándulas; las internas 5,9-12,6 x 0,6-1,9 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas o acuminadas, ± coriáceas y con margen escarioso pardo o negruzco, con abundantes pelos tectores rígidos ± antrorso-aplicados en el margen, en el dorso glabras o subglabras en la mitad inferior y de laxa a densamente cubiertas de pelos tectores antrorsos y adpresos en la mitad superior. Flores liguladas 30-70 por capítulo, corola de (13)15-22 mm sobrepasando claramente –de 7 a 14 mm– al involucro, glabras o con escasos tricomas glandulíferos minúsculos en la cara abaxial. Flósculos con corola de 6-9 mm, con o sin tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios 1,6-2,2 mm, ± cilíndricos, no contraídos en el ápice, glabros. Vilano 6-8 mm, con 30-45 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 16, 16^* + 1B, 2B, 18^*$.

Claros y matorrales de sustitución de diversos tipos de bosques (robleales, quejigares, hayedos, encinares, coscojares, pinares o enebrales), brezales higrófilos, pastos húmedos, cascajares en márgenes de cursos de agua, en substrato básico o más raramente en silíceo; 0-1650 m. (V)VI-IX. Casi toda Europa –excepto el extremo septentrional– y gran parte de Asia, naturalizada en Norteamérica. Mitad N de la Península Ibérica, llegando a las sierras del SE ibérico. **Esp.:** (A) Ab Av B Ba Bi Bu Cc CR Cs Cu Ge Gu Hu J L Le Lo Lu M Mu Na O Or P Po S Sa Sg So T Te To V Va Vi Z Za. **Port.:** BA (DL) Mi TM. **N.v.:** árnica, tabaquera, té, té de prado; *port.*: bubonio; *cat.*: árnica, àrnica.

Observaciones.–Se han reconocido dos subespecies que se han citado en la Península Ibérica: subsp. *salicina* y subsp. *aspera* (Poir.) Hayek in Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 2: 602 (1931) [*I. aspera*



Poir., *Encycl. Suppl.* 3: 154 (1813), basión.]. La subsp. *salicina* se caracterizaría por el tener tallo viloso en la base y glabro en el ápice, hojas enteras o remotamente denticuladas, glabras o subglabras, y pocos capítulos, mientras que la subsp. *aspera* tendría todo el tallo esparcidamente viloso, hojas denticuladas y pelosas en los nervios del envés, y mayor número de capítulos. Tras haber estudiado y comparado abundante material ibérico y europeo, consideramos que no hay razones de peso para mantener estas dos subespecies, ya que los caracteres utilizados como diagnósticos son muy variables y tampoco hay un patrón geográfico del reparto de los individuos con unos u otros caracteres.

Por otra parte, en algunas floras básicas [cf. H.M. Willkomm in H.M. Willk. & J.M.Ch. Lange, *Prodr. Fl. Hispan.* 2: 44 (1865); B. Merino, *Fl. Galicia* 2: 339 (1906); y O. de Bolòs & J. Vigo, *Fl. Països Catalans* 3: 750 (1985)] indican una serie de citas antiguas de *I. hirta* L., *Sp. Pl.* 883 (1753) [*Jacobaea hirta* (L.) Merino, *Fl. Galicia* 2: 338 (1906)] en la Península Ibérica. Esta especie se diferencia de *I. salicina* fundamentalmente por sus hojas más pelosas, vilosas o subhirsutas por ambas caras, y también por las brácteas externas del involucreo ± densamente vilosas y más estrechas --de linear-lanceoladas a lanceoladas— y capítulos a menudo solitarios. Aunque las descripciones que aparecen en dichas obras pueden corresponder a *I. hirta*, en ninguno del numeroso material ibérico revisado, tanto el procedente de las zonas de donde se había citado como del resto de la Península, se han encontrado ejemplares que pudieran pertenecer a esa especie. Los posibles errores de identificación quizá se debieran a una confusión con las con formas más pelosas de *I. salicina* y no de la verdadera *I. hirta*, que es planta de distribución eurosiberiana que sólo llega y de manera puntual al SE de Francia (cf. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-35796-synthese>).

Además, existen también algunas posibles citas peninsulares de otra especie próxima a *I. salicina*, como son las que se pueden atribuir a *I. spiraeifolia* L., *Syst. Nat.*, ed. 10: 1219 (1759) [sub *I. squarrosa* L., *Sp. Pl.* ed. 2, 2: 1240 (1763)]. Esta especie es endémica del S de Europa, desde Bulgaria hasta el CW de Francia, donde no alcanza los Pirineos (cf. <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-35827-synthese>). Se diferencia de *I. salicina* por sus hojas caulinares medias cuneadas en la base, los tallos con más hojas y estas más aproximadas y la sinflorescencia en cima corimbiforme más compacta. Sin embargo, todas esas citas son erróneas. La cita de M. Colmeiro en Cataluña [cf. *Cat. Pl. Cataluña* 80 (1846)] fue considerada errónea por H.M. Willkomm [cf. *Suppl. Prodr. Fl. Hispan.* 77 (1893)], resultado de una posible confusión con *I. helvetica*. Por otra parte, F. Sennen distribuyó en una exsiccata (cf. F. Sennen, *Pl. Espagne*, 1928) un material identificado como *I. squarrosa* L. [Nº 6591] procedente del prepirineo catalán; tras la revisión de varios de los pliegos repartidos (BCN 24628, G 00035603, MA 125353), se trata de ejemplares de *I. salicina* y no de *I. spiraeifolia*. Asimismo, O. de Bolòs & J. Vigo (loc. cit., 748) indican que este taxón ha sido citado de manera confusa en Cataluña, dado que el nombre “*I. squarrosa*” ha sido también utilizado como sinónimo de *I. conyzae*.

También H.M. Willkomm [cf. H.M. Willk. & J.M.Ch. Lange, *Prodr. Fl. Hispan.* 2: 44 (1865)] recoge una cita de *I. semiamplexicaulis* Reut. [cf. Reut. in *Mém. Soc. Phys. Genève* 7: 169 (1836)] en Olot (Gerona). Tras el estudio del pliego testigo depositado en COI-Willkomm el material corresponde, en realidad, a *I. salicina* y no a la especie descrita por Reuter y que este autor consideró como un posible híbrido entre *I. helvetica* e *I. salicina*, conocido con seguridad únicamente de Suiza e Italia [cf. Reut., loc. cit.; B. Müller in *Bot. Helv.* 106(2): 177-195 (1996)].

4. *Inula britannica* L., *Sp. Pl.*: 882 (1753)

[británica]

Aster britannicus (L.) All., *Fl. Pedem.* 1: 197 (1785)

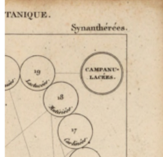
Conyza britannica (L.) Rupr. ex Morison, *Fl. Ingr.*: 569 (1860)

Helenium britannica (L.) Kuntze, *Revis. Gen. Pl.* 1: 342 (1891)

I. comosa Lam., *Fl. Franç.* 2: 147 (1779)

I. britannica var. *comosa* Mérat, *Nouv. Fl. Env. Paris*: 329 (1812)

I. dichotoma Zuccagni in Roem., *Collectanea*: 154 (1806)



- I. britannica* var. *dichotoma* (Zuccagni) DC., Prodr. 5: 468 (1836)
I. britannica var. *angustifolia* Boenn., Prodr. Fl. Monast. Westphal.: 256 (1824)
I. britannica var. *uniflora* Gaudin, Fl. Helv.: 320 (1829)
I. britannica var. *angustifolia* Beck, Europ. Inula-Art.: 38 (1882), nom. illeg.
I. britannica var. *discoidea* Tausch ex Beck, Europ. Inula-Art.(1882), nom. illeg.
I. britannica var. *incisa* Beck, Europ. Inula-Art.: 38 (1882)
I. britannica var. *ovalifolia* Beck, Europ. Inula-Art.: 38 (1882)
I. britannica var. *tomentosa* Beck, Europ. Inula-Art.: 38 (1882)
I. britannica var. *vulgaris* Beck, Europ. Inula-Art.: 38 (1882)
Pentanema britannicum (L.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67
Ind. loc.: "Habitat in Lusatia, Bavaria, Scania" [lectótipo designado por A.A. Anderberg in Taxon 47: 363 (1998): UPS-BURSER XV(1): 41]
lc.: Fiori & Paol., Iconogr. Fl. Ital. ed. 3: 446 fig. 3563 (1933); Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur. ed. 3, 6(3): 181, fig. 83 a-f (1979); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 34, nº 925 5-23; tab. 35, nº 926 (1853).

Hierba perenne, rizomatosa, con con rizoma \pm delgado, esparcidamente vilosa o esparcidamente pubescente, a veces glabra o \pm densamente viloso-tomentosa o viloso-lanosa en alguna de sus partes, con pelos tectores pluricelulares de 0,3-1,5(3) mm y glándulas subsésiles. Tallos (15)20-70 cm, de 1,2-6 mm de diámetro, erectos, muy rara vez cortamente ascendentes, en general ramificados en la parte superior, esparcidamente vilosos o esparcidamente pubescentes, en ocasiones \pm densamente viloso-tomentoso o viloso-lanoso, a menudo glabro o subglabro en la base. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de manera gradual de tamaño de la base al ápice, no coriáceas, denticuladas –rara vez enteras–, con nervadura reticulada poco prominente, no ciliadas, agudas, en ocasiones acuminadas, en general verdes o en ocasiones verde-grisáceas y de glabras a esparcidamente vilosas o pubescentes por el haz y verde-grisáceas o rara vez verde-blanquecinas y en general de esparcidamente vilosas a vilosas o pubescentes o, en ocasiones, \pm densamente viloso-tomentosas o viloso-lanosas por el envés, con pelos tectores y glándulas frecuentes y abundantes por el envés, escasas o sin ellas por el haz; las basales (3)4,5-7(12) x 0,6-1,4(3), casi siempre desaparecidas en la floración, de estrechamente lanceoladas a estrechamente elípticas, atenuadas en un pecíolo de 0,5-2(3) cm; las caulinares (1)2-9,5 x (0,2)0,4-1,4 cm –las del medio del tallo (4)6-11 veces más largas que anchas–, de estrechamente lanceoladas a oblongo-lanceoladas, sésiles, redondeadas en la base –en ocasiones, ligeramente auriculadas–, al menos las superiores semiamplexicaules, en alguna ocasión cortamente decurrentes. Sinflorescencia con 1-35 capítulos dispuestos en cima corimbiforme laxa. Capítulos de (20)25-40(45) mm de diámetro, pedunculados, con pedúnculos de 5-40 mm. Involucro 7-12(14) mm, de (7)10-20(23) mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas 4-14 x 0,6-2 mm, reflejas o patentes al menos en su mitad superior, linear-lanceoladas o estrechamente lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en su mayor parte, \pm densamente vilosas, con pelos tectores y abundantes glándulas; las internas 5-9,2 x 0,3-1,1 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas o cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte, con estrecho margen hialino o parduzco, con el margen con glándulas o a veces con algunos pelos tectores largos irregularmente dispuestos, sin pelos tectores rígidos \pm antrorso-aplicados o muy rara vez con alguno aislado, de subglabras a esparcidamente vilosas en el dorso, sin o con algunos pelos tectores y glándulas \pm abundantes. Flores liguladas 40-80 por capítulo, corola de 12-20 mm, sobrepasando claramente –5-12 mm– al involucro, con abundantes glándulas, sin largos pelos tectores. Flósculos con corola de (4)4,5-6,2(7,2) mm, con tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios (0,9)1,1-1,5(1,8) mm, \pm cilíndricos, no o muy ligeramente contraídos en el



ápice, con pelos tectores antrorsos, \pm adpresos, repartidos por toda su superficie, muy raramente solo con pelos en la mitad superior, excepcionalmente con algunas glándulas aisladas en el ápice Vilano 4-6(6,8) mm, con 20-34 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 16^*$, 32^* ; $n = 16^*$.

Sitios húmedos, a menudo temporalmente encharcados, de riberas de cursos de aguas, lagunas someras, bordes de estanques o de pequeños embalses, o pastos muy húmedos, con preferencia sobre substratos básicos; 500-1100 m. VII-IX. Eurosiberiana; desde la Península Ibérica hasta China, por casi toda Europa, aunque escasa o falta en el S, y el C y N de Asia; naturalizada en Norteamérica. Muy esporádica por el NE y C peninsular. **Esp.:** Cu Hu So Te Va Z.

Observaciones.-Especie extendida por casi todo Eurasia y extraordinariamente polimorfa dentro de la cual se han descrito varios táxones infraespecíficos [cf. G. Beck, *Europ. Inula-Art.*: 38 (1882); S.G. Gorschkova in B.K.Schischkin, *Fl. USSR* 25: 436 (1999)]. En el conjunto de su área es muy variable sobre todo en la ramificación del tallo, tamaño y forma de las hojas y de las brácteas del involucre, tamaño y número de capítulos y el tipo del indumento general y del aquenio [cf. S.G. Gorschkova in B.K.Schischkin, *Fl. USSR* 25: 436 (1999)]. A la Península Ibérica llega de manera finícola en el límite occidental de su área natural y se conocen solo algunas poblaciones dispersas que con seguridad correspondan a esta especie; aunque es algo polimorfa en caracteres como, por ejemplo, el indumento general o en la forma de las hojas, no parece tan variable con el resto de su área.

En la Península Ibérica a menudo no es fácil distinguirla de la especie siguiente, *I. helenioides*, en parte debido al gran polimorfismo de esta segunda en la Península, y por ello no son raros los errores de determinación entre ambas y las citas bibliográficas poco fiables. No hay ningún carácter diferencial absoluto, pues todos se solapan en mayor o menor grado, y es necesario acudir a un conjunto de caracteres, como los indicados en la clave o también otros como la forma de las hojas caulinares (de estrechamente lanceoladas a oblongo-lanceoladas en *I. britannica* frente a de lanceoladas a anchamente oblongo-lanceoladas en *I. helenioides*) o la presencia o no de hojas basales en la floración (casi siempre desaparecidas en *I. britannica* y en general presentes, verdes o secas, en *I. helenioides*); además, a veces pueden encontrarse individuos con caracteres intermedios entre ambas especies y de difícil asignación a una u otra. Así, en materiales recolectados en Boecillo (Valladolid), algunos (SALA 65834 y 80275) corresponden con pocas dudas a *I. britannica*, mientras que otros (SALA 84927, MA 588307) aunque parecen pertenecer a esta especie tienen algunos caracteres (como la forma y anchura de las hojas) que les aproximan a *I. helenioides*.

Entre los individuos que pueden ser algo dudosos se encuentran los que C. Pau utilizó para describir *I. hispanica* Pau, *Not. Bot. Fl. Españ.* 6: 62 (1896), que fue después combinada como subespecie de *I. britannica* (cf. O. de Bolòs & J. Vigo in *Fontqueria* 14: 9 (1987)). Pero tras estudiar algunos de los posibles materiales tipo (MA 125572, herbario de Loscos sin etiqueta; MA 125586, Alpuente,-Cañadilla) consideramos que esos ejemplares entran dentro del rango de variación de *I. helenioides* y esos nombres deben llevarse a la sinonimia de esta última especie.

Sí que se observa alguna diferencia por el hábitat en el que viven estas especies, ya que *I. britannica* prospera en sitios más húmedos que *I. helenioides*; algo que se ha observado a veces cuando conviven en zonas próximas, como en la laguna de La Serna donde se puede encontrar individuos intermedios alejados de las zonas más húmedas (Hinojosa de la Sierra, Soria; SALA 160632, SALA 160631 *britannica* y SALA 160633, SALA 160630 individuos intermedios). Precisamente, los individuos que con mayor seguridad corresponden a *I. britannica* de todos los estudiados de la Península crecen en el borde en un pequeño embalse en zonas que pueden estar inundadas parte del año [Alberca de Cortés, Chimillas, Huesca; cf. J. Puente in *Flora Montiberica* 41: 25 (2009), sub *I. britannica* subsp. *hispanica*; JACA R284236; SALA 156521].



5. I. helenioides DC. in Lam. & DC., Fl. Franç., ed. 3, 5: 470 (1815)

[helenioídes]

- I. dubia* Pourr. in Hist. & Mém. Acad. Roy. Sci. Toulouse 3: 321 (1788), nom. illeg., non Thunb., Fl. Jap.: 318 (1784)
- I. helenioides* var. *flosculosa* DC., Prodr. 5: 466 (1836)
- I. helenioides* var. *adenactis* Sch. Bip. in Willk., Sert. Fl. Hispan.: 82 (1852)
- I. helenioides* var. *bracteosa* Vayr., Pl. Notabl.: 90 (1879)
- I. helenioides* f. *lutescens* Pau, Not. Bot. Fl. Españ. 2: 29 (1888)
- I. lutescens* (Pau) Pau, Not. Bot. Fl. Españ. 6: 62 (1896), pro hybrid (*I. helenioides* x *montana*)
- I. casaviellae* Pau, Not. Bot. Fl. Españ. 6: 62 (1896)
- I. hispanica* Pau, Not. Bot. Fl. Españ. 6: 62 (1896)
- I. britannica* subsp. *hispanica* (Pau) Bolòs & Vigo in Fontqueria 14: 9 (1987)
- I. asteriscus* Pau in Actas Soc. Esp. Hist. Nat. 27: 88 (1898)
- I. turolensis* Pau in Bull. Acad. Int. Géogr. Bot. 16, n°206: 77 (1906), pro hybrid (*I. hispanica* x *salicina*)
- Inula helenioides* x *salicina* var. *turolensis* Pau, in sched.
- I. stenophylla* Sennen & Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 6: 26 (1907), pro hybrid (*I. hispanica* x *montana*)
- I. helenioides* var. *canescens* Zubía, Fl. Rioja: 89 (1921)
- I. helenioides* var. *virescens* Zubía, Fl. Rioja: 89 (1921)
- I. burgalensis* Sennen & Elías, nom. nud., in sched., pro hybrid (*I. sennenii* x *helenioides*) [MA 125769!]
- I. helenioides* var. *angustifolia* Sennen, nom. nud., in sched. [BCN 24810! MA 125631! MPU!]
- I. obtusa* Sennen & Pau, nom. nud., in sched., pro hybrid (*I. helenioides* x *montana*) [MA 125775!]
- I. microlepis* Pau, nom. nud., in sched., pro hybrid (*I. hispanica* x *salicina*) [MA 125780!]
- I. oculus-christi* auct. hisp., non L., Sp. Pl.: 881 (1753)
- ? *Inula eliasii* Sennen & Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 6: 26 (1907), pro hybrid (*I. helenioides* x *montana*) [¿? sinonimia incierta]
- Pentanema helenioides* (DC.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67
- Ind. loc.*: "... au-dessus de Ria dans les Pyrénées orientales; M. Coder me l'a envoyée des environs de Prades: il paraît qu'elle se retrouve à Perpignan (Lapeyr.) et dans les Corbières."
- Ic.*: L. Villar & al., Atlas Fl. Pirineo Aragon. 2: 269 (2001) lám. 2

Hierba perenne, rizomatosa, con rizoma ± delgado, vilosa, sericeo-vilosa o tomentoso-vilosa, con pelos tectores pluricelulares de (0,2)1-5(6) mm y glándulas subsésiles. Tallos 15-65 cm, de 1,5-5 mm de diámetro, erectos, muy rara vez cortamente ascendentes, en general ramificados en la parte superior, ± densamente vilosos, a veces tomentoso-vilosos o seríceo-vilosos, con indumento más denso y aplicado en la mitad inferior. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de manera gradual de tamaño de la base al ápice de la planta, no coriáceas, enteras o remotamente denticuladas, con nervadura reticulada poco prominente, no ciliadas, agudas o subagudas, en ocasiones acuminadas, de verde-grisáceas a grisáceo-blanquecinas y de esparcida a densamente vilosas por el haz y grisáceo-blanquecinas o blanquecinas y ± densamente vilosas o sericeo-vilosas por el envés, con pelos tectores y glándulas por ambas caras; las basales (4,3)5-17(23) x (0,5)1-5 cm, en general presentes, verdes o secas, en la floración, de lanceoladas a oblongo-ovadas, atenuadas en un pecíolo de 0,5-6 cm; las caulinares (1)2-8(18) x 0,4-2(4) cm, de lanceoladas a anchamente oblongo-lanceoladas —las del medio del tallo 2-7 veces más largas que anchas—, sésiles, de redondeadas a cordatas en la base, al menos las superiores semiamplexicaules, en alguna ocasión cortamente decurrentes. Sinflorescencia con (1)2-9(12) capítulos dispuestos en cima corimbiforme laxa. Capítulos de 20-50 mm de



diámetro, pedunculados, con pedúnculos de (5)15-40(60) mm. Involucro (7)10-15 mm, de 10-20 mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas (3,5)5-14(23) x (0,8)1-2(2,4) mm, de erectas a patentes, linear-lanceoladas o estrechamente lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en su mayor parte, densamente vilosas o tomentosas, con pelos tectores y abundantes glándulas; las internas 7-12 x 0,5-1,2 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas o cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte con margen hialino o parduzco, en general con abundantes pelos rígidos ± antrorso-aplicados en el margen, acompañados o no de glándulas, de subglabras a esparcidamente vilosas en el dorso, con algunos pelos tectores y en general abundantes glándulas. Flores liguladas

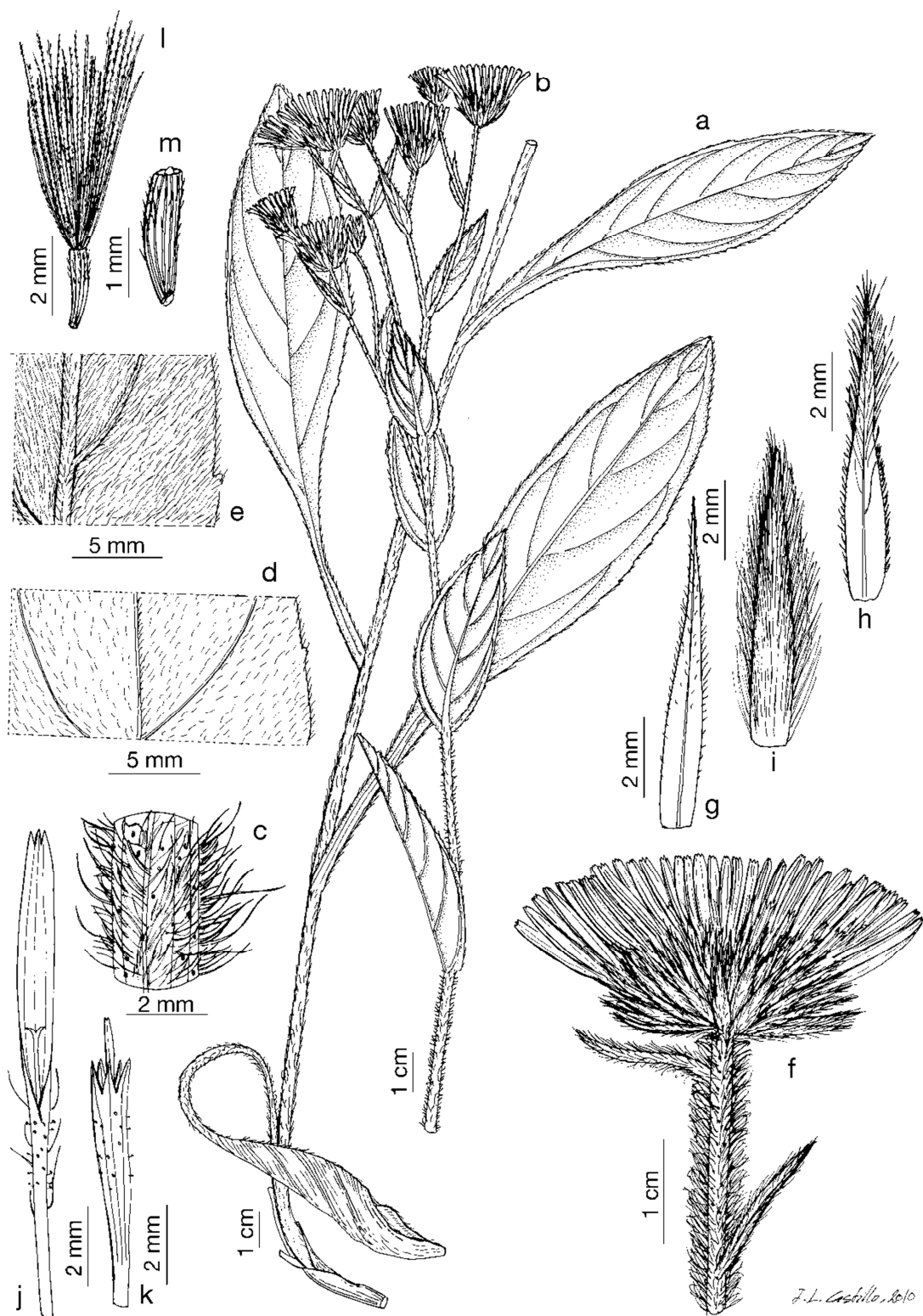
media; i) bráctea involucral externa; j) flor ligulada (femenina); k) flor flosculosa (hermafrodita); l) aquenio; m) detalle del indumento del aquenio.

60-120 por capítulo, corola de (8)10-18(22) mm, sobrepasando claramente -(4)5-10(15) mm-al involucro, con abundantes glándulas subsésiles y en general también con pelos tectores en la cara abaxial, al menos alguno hacia la base del limbo, ocasionalmente carecen de ellos todas las lígulas de un capítulo. Flósculos con corola de 6-9 mm, con tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios (1,1)1,8-2,2 mm, ± cilíndricos, no contraídos en el ápice, con pelos tectores antrorsos, ± adpresos, repartidos por toda su superficie o a veces solo en la mitad superior, excepcionalmente alguno glabro. Vilano 6-8,5 mm, con (18)20-28(35) pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 32, 40$.

Pastos algo húmedos, herbazales, praderas juncales, ribazos y cunetas, sobre substratos básicos (calizas, margas, yesos) o más raramente silíceos (arenas y arcillas); 150-1700 m. (V)VI-X(XI). Mediterráneo occidental: SE de Francia y España peninsular. Frecuente sobre todo en el cuadrante NE peninsular, extendiéndose a otras zonas del C, hasta la provincia de Zamora **Esp.:** B Bu Cs Cu Ge Gu Hu L Le Lo M Na P S Sg So T Te To? V Va Vi Z Za. **N.v.:** árnica, arnica, arnicón, tabaquera; *cat.:* àrnica, àrnica.

Observaciones.-Muy variable sobre todo en el indumento general y en la forma y anchura de las hojas y en menor medida en el indumento de las lígulas, tamaños de los flósculos y en la posición de las brácteas del involucro. Esta variabilidad complica su separación de la especie anterior. Véase al respecto lo comentado en las observación de *I. britannica*.

Algunos de los ejemplares más desviantes y que por su morfología recuerdan a los de otras especies del género fueron considerados y descritos como híbridos, en su mayoría por C. Pau o F. Sennen. Estos híbridos se habrían producido con *I. salicina*, *I. montana* o *I. langeana*. Sin embargo, tras el estudio morfológico de la mayoría del material original de los mismos consideramos que pueden incluirse en la variabilidad de *I. helenioides*, y sus nombres son considerados sinónimos, al menos en tanto no se demuestre de manera fehaciente que se trata de auténticos híbridos.



J. L. Castillo, del.

Lám. 2.—*Inula helenioides*, a-e, l-m) Sierra de Gúdar, Teruel (MA 178115); f-k) Burgo de Osma, Soria (SALA 135800): a) parte inferior de la planta; b) parte superior de la planta e inflorescencia; c) indumento del tallo en la parte media; d) indumento foliar, por el haz; e) indumento foliar, por el envés; f) capítulo; g) bráctea involucrel interna; h) bráctea involucrel

**6. *I. montana* L., Sp. Pl.: 884 (1753)**

[montana]

- Aster montanus* (L.) All., Fl. Pedem. 1: 195 (1785)
I. montana Biv., Sicul. Pl.: 43 (1806), nom. illeg.
Helenium montanum (L.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 343 (1891)
I. villosa L., Syst. Nat. ed. 10: 1219 (1759)
Pulicaria calycina C. Presl in J. Presl & C. Presl, Delic. Prag.: 96 (1822)
Inula calycina (C. Presl) C. Presl, Fl. Sicul.: XXIX (1826)
Inula montana var. *calycina* (C. Presl) Batt. in Batt. & Trab., Fl. Algérie 1: 431 (1889)
I. calycina Spreng., Syst. Veg. 3: 521 (1826), nom. illeg.
I. montana var. *elongato-elegantissima* Ladero & Gómez, nom. nud., in sched.
I. montana var. *lanata* Font Quer & Pau, nom. nud., in sched.
I. montana var. *legionensis* Pau, nom. nud., in sched.
I. montana var. *oxylepis* Pau, nom. nud., in sched.
I. montana var. *foliacea* Pau in Actas Mem. Prim. Congr. Nat. Esp. Zaragoza: 247 (1909)
I. foliacea Pau, nom. nud., in sched.
I. montana f. *macrocephala* Sennen & Mauricio, nom. nud., in sched.
Pentanema montanum (L.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67
Ind. loc.: "Habitat in Alpibus Helvetiae, Vallesiae" [lectótipo designado por P. Ferrer-Gallego & al. in Candollea 69: 8 (2014): lámina en Morison, Pl. Hist. Univ., 3: 119, sect. 7, tab. 21, f. 12 (1699); epítipo designado por P. Ferrer-Gallego & al. in Candollea 69: 8 (2014): Herb. Morison, M.P.H. III, 113, no. 4 (OXF)]
Ic.: Hegi, Ill. Fl. Mitt.-Eur. ed. 3, 6(3): 185, fig. 87 (1979); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 34, nº 925 II, 1-4 (1853); Valdés, Talavera & Galiano (eds.), Fl. Andalucía Occid. 3: 16 (1987)

Hierba perenne, rizomatosa, con rizoma corto y \pm delgado, vilosa o tomentoso-seríceo o lanosa, con pelos tectores pluricelulares de 1-5 mm y glándulas sésiles o subsésiles. Tallos 10-40 cm, de 1-3 mm de diámetro, erectos o cortamente ascendentes, simples o en ocasiones algo ramificados en la parte superior, \pm vilosos o tomentosos, con indumento más denso y aplicado en la mitad inferior. Hojas concentradas sobre todo hacia la base de la planta, disminuyendo de tamaño bruscamente de la base al ápice de la planta, no coriáceas, enteras o denticuladas, con nervadura reticulada poco prominente, no ciliadas, verdes o algo grisáceo-blanquecinas y de subglabras a \pm vilosas, tomentoso-seríceas o lanosas por el haz, grisáceo-blanquecinas y \pm densamente vilosas, tomentoso-seríceas o lanosas por el envés, con pelos tectores y glándulas por ambas caras; las basales (2)3-10(17) x (0,4)0,6-1,5(2) cm, de oblanceoladas a oblongo-lanceoladas, subobtusas, atenuadas en un pecíolo hasta de 3 cm; las caulinares, poco numerosas, de 1-5,5 x 0,2-0,7 cm, linear-de linear-lanceoladas a oblongo-lanceoladas, agudas, cuneadas, sésiles, no decurrentes. Capítulos en general 1, solitario, terminal, de (20)30-50(55) mm de diámetro, de corta a largamente pedunculado, con pedúnculo de 5-60 mm, en ocasiones además 2-3 de menor tamaño o que no llegan a desarrollarse por completo. Involucro 8-15 mm, de (10)12-30 mm de diámetro, hemisférico; brácteas externas 3,9-10,3(14) x 1,1-2,5(4) mm, de patentes a erectas, de linear-lanceoladas a lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en su mayor parte, \pm densamente vilosas, con pelos tectores y con o, a veces, sin glándulas, en ocasiones glabras en el tercio inferior; las internas 7-13,5 x 0,4-1 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas o cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte, con margen de hialino a pardo-rojizo, con abundantes pelos tectores rígidos \pm antrorso-aplicados en el margen en el margen, de subglabras a esparcidamente vilosas en el dorso, con pelos tectores y sin glándulas o rara vez con algunas. Flores liguladas (30)40-60 por capítulo, corola de (10)12-20(25) mm, sobrepasando \pm claramente -4-15 mm- las brácteas del involucro, con algunos tricomas



glandulíferos minúsculos en la cara abaxial. Flósculos con corola de 6-7,5(9), con o sin tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios 2-2,5(3) mm, ± cilíndricos u oblongoides, ligeramente contraídos en el ápice, con pelos tectores antrorsos, ± adpresos, repartidos por toda su superficie. Vilano 6-8 mm, con 20-35 pelos libres o muy ligeramente soldados en la base. $2n = 16$; $n = 8^*$.

Pastos poco densos o claros de diversos tipos de bosque (encinares, sabinares, coscojares, quejigares, pinares) o de sus matorrales de sustitución, preferentemente en substrato básico (calizas, margas, yesos, dolomías), a veces en substrato silíceo (conglomerados); 250-2100 m. (IV)V-VIII (X). Mediterráneo Occidental, desde el N de Marruecos hasta Italia y Túnez. Dispersa por casi toda la Península, aunque muy escasa o falta en buena parte del tercio occidental. **Esp.:** A Ab Al Av B Bi Bu Co CR Cs Cu Ge Gr Gu Hu J L Le Lo Lu M Ma Mu Na O P S Sg So T Te To V Va Vi Z Za. **Port.:** E TM. **N.v.:** árnica árnica falsa, árnica fina, árnica montana, árnica montera, érnica de monte, falsa árnica, flor de árnica, gargallo, hierba montana, ínula montana, montana, padres e hijos, tabaquera, té de risco, té de roca; *port.:* herba montãa, montãa; *cat.:* àrnica, àrnica borda, àrnica vera, érnica, herba del mal estrany, ínula de muntanya.

7. I. langeana Beck in Denkschr. Kaiserl. Akad. Wiss.,

[langeána]

Math.-Naturwiss. Kl. 44: 329 (1882)/ Beck, Europ. Inula-Art.: 49 (1882)/

I. suaveolens sensu Lange in Vidensk. Meddel. Dansk Naturhist. Foren. Kjøbenhavn 1861: 67 (1862)/Pug. Pl. Hispan. 117 (1861/2), non Jacq., Hort. Bot. Vindob. 3: 29; tab. 51 (1777)

I. suaveolens sensu Willk. in Willk & Lange, Prodr. Fl. Hispan. 2: 43 (1865), non Jacq., Hort. Bot. Vindob. 3: 29; tab. 51 (1777)

I. gutierrezii Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 3: 291 (1904)

I. conyza subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela in Fontqueria 27: 9 (1989)

I. sennenii Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 6: 25 (1907)

I. conyza subsp. *sennenii* (Pau) Losa & Montserrat in Anales Jard. Bot. Madrid 10(2): 466 (1953), comb. inval.

I. celtiberica Sennen ex Elías, pro hybrid (*I. montana* × *sennenii*), nom. nud., in sched. [MA 125782!]

I. vicina Sennen & Pau, pro hybrid (*I. sennenii* × *vulgaris*), nom. nud., in sched. [MA 125789!]

I. adenophylla Sennen & Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 6: 26 (1907), pro hybrid (*I. salicina* × *vulgaris*) [¿? sinonimia incierta]

? *I. eliasii* Sennen & Pau in Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat. 6: 26 (1907), pro hybrid (*I. helenioides* × *montana*) [¿? sinonimia incierta, con *I. helenioides*]

Pentanema langeanum (Beck) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67

Ind. loc.: "In collibus calcareis prope Encinillas in Veteri-Castelli"

lc.: Aseg. & al., Cat. Fl. Álava Vizcaya Guipúzcoa: 766 (1985) [sub *I. sennenii*]; lám. 3 a-k

Hierba perenne, rizomatosa, con rizoma algo grueso, de pubescente a tomentosa o lanosa, con pelos tectores pluricelulares de 0,5-7 mm y glándulas sésiles o subsésiles. Tallos (25)35-70 cm, (1,7)2-5 mm de diámetro, erectos, ramificados en la parte superior, de vilosos a tomentosos o lanosos, a veces densamente sobre todo en la base. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, no coriáceas, de enteras a remotamente serruladas, de estrechamente lanceoladas a oval-lanceoladas, con nervadura reticulada poco prominente, no ciliadas, agudas, en ocasiones cortamente



acuminadas, verdes o verde-grisáceas y de pubescentes a vilosas por el haz, verde-grisáceas o en ocasiones grisáceo-blanquecinas y de vilosas a tomentosas o lanosas por el envés, con pelos tectores y glándulas en ambas caras; las basales (3)4,4-18 x 0,8-3,2 cm, atenuadas en un largo pecíolo hasta de 6 cm, rara vez sésiles; las caulinares (0,8)1,2-9,3(11) x 0,2-3 cm, sésiles, truncadas o ligeramente semiamplexicaules en la base, no decurrentes. Sinflorescencia con 4-20(45) dispuestos en inflorescencia corimbiforme ± laxa. Capítulos de 13-23 mm de diámetro, en general pedunculados, ocasionalmente subsésiles, con pedúnculos de 2-40(50). Involucro 10-15 mm, de (8)10-15 mm de diámetro, anchamente cilíndrico o subhemisférico; brácteas externas 2,8-8(9,3) x 0,9-2(2,7) mm, de patentes a erectas y solo el ápice patente o recurvado, de linear-lanceoladas a ovado-lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en la mitad o tercio apical, a veces por completo, con margen escarioso de hialino a pardo oscuro o pardo purpúreo, ciliadas en el margen, densamente vilosas o tomentosas, a veces de subglabras a pubescentes en el tercio inferior, con pelos tectores y glándulas; las internas 8-13 x 0,7-1,2 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas, en ocasiones cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte, con margen de hialino a pardo purpúreo, con abundantes pelos tectores rígidos ± antrorso-aplicados en el margen en el margen, ± vilosas en el dorso, con pelos tectores y glándulas, estas a menudo abundantes. Flores liguladas 30-60 por capítulo, corola de (8)9-12(15) mm, sobrepasando ligeramente –hasta 3(5) mm– las brácteas del involucro, con limbo bien desarrollado –al menos de 2 mm y más largo que los estigmas en la anthesis– y se distinguen fácilmente de los flósculos, con algunos tricomas glandulíferos minúsculos en la cara abaxial. Flosculos 7-10 mm, con tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios 2,2-3 mm, ± cilíndricos u oblongoides, no o apenas contraídos en el ápice, con pelos tectores antrorsos, ± adpresos, en toda su superficie, aunque más abundantes en la parte apical, o con ellos solo en la mitad superior. Vilano 7-9 mm, con 25-35 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 32, 40, 48$.

Claros y orlas de quejigares, encinares, coscocajes y pinares, también en matorrales y terrenos pedregosos más abiertos, en substratos básicos (calizas, margas); 230-1300(1600) m. VI-IX(XII). ● CN de España peninsular. **Esp.:** Bu Hu Le Lo Na P S Sg Va Vi.

8. *I. conyzae* (Griess.) DC., Prodr. 5: 464 (1836) ["*Conyza*"]

[conýzae]

Aster conyzae Griess., Kleine Bot. Schr.: 122 (1836) [antes de VII.1836] [basió*n* *Conyza squarrosa* L., Sp. Pl.: 861 (1753) [syn. subst.], non *Aster squarrosus* All., Fl. Pedem. 1: 196. (1785)

Conyza vulgaris Lam., Fl. Franç. 2: 73 (1779), nom. illeg.

I. squarrosa (L.) Bernh., Syst. Verz.: 148 (1800), non L., Sp. Pl. ed. 2: 1240 (1763), nom. illeg.

I. vulgaris Trevisan, Prosp. Fl. Eugan.: 29 (1842), nom. illeg.

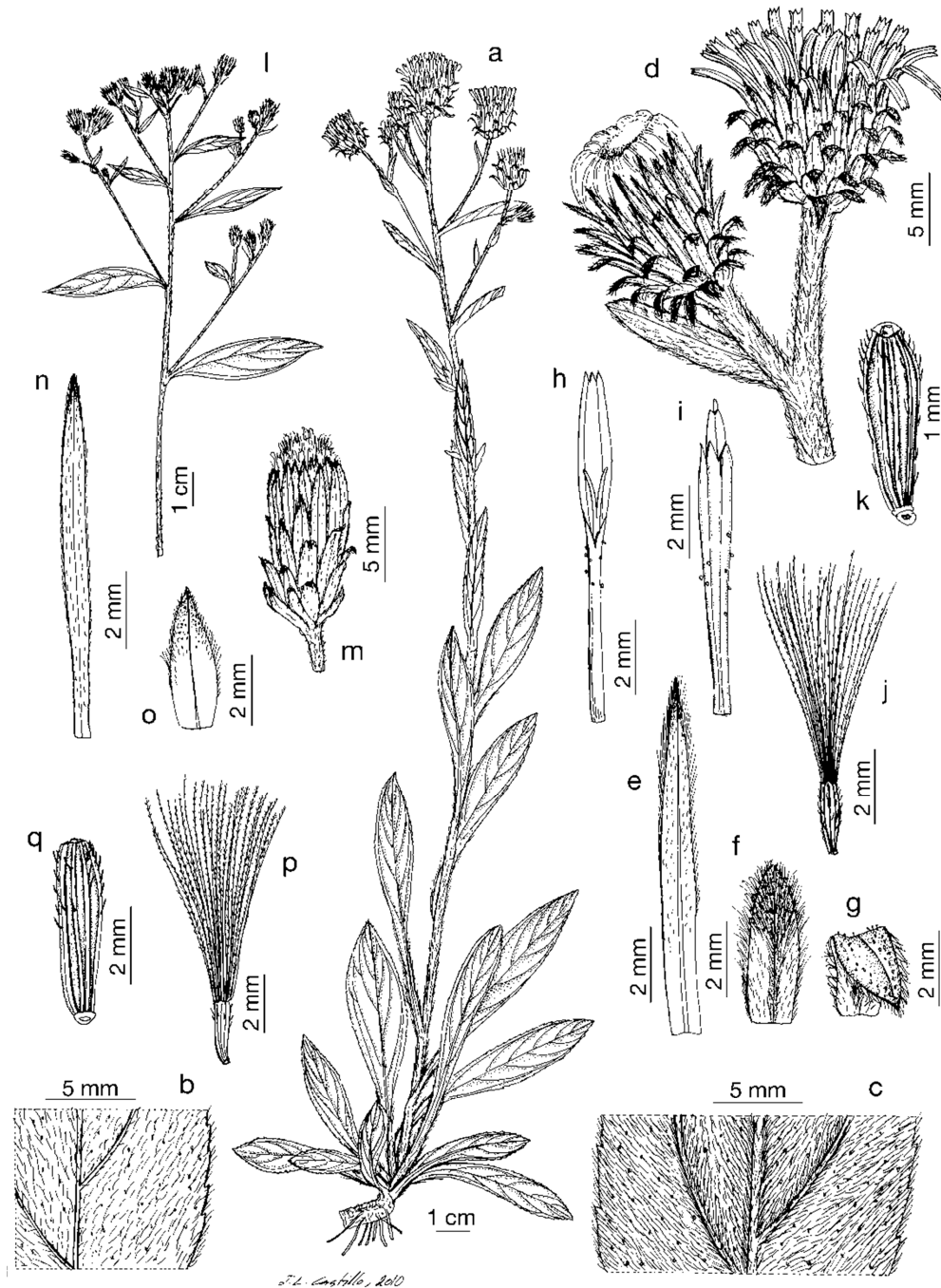
I. foetida Dulac, Fl. Hautes-Pyrénées: 516 (1867), nom. illeg.

Jacobaea conyza (Griess.) Merino, Fl. Galicia 2: 337 (1906)

I. conyzae (Griess.) Meikle, Fl. Cyprus 2: 890 (1985), comb. superfl.

Pentanema conyzae (Griess.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67

Ind. loc.: "Habitat in Germaniae, Belgii, Angliae, Galliae siccis" (sub *Conyza squarrosa*) [lectótipo designado por K.H. Rechinger in Fl. Iranica 145: 92 (1980): Herb. Clifford, BM-000647042]



Lám. 3.—*Inula langeana*, a-i) Basconillos de Tozo, Burgos (SALA 135801); j-k) Traspinedo, Valladolid (SALA 135802): a) hábito; b) indumento foliar, por el haz; c) indumento foliar, por el envés; d) capítulos; e) bráctea involucral interna; f-g) brácteas involucrales externas; h) flor ligulada (femenina); i) flor flosculosa (hermafrodita); j) aquenio; k) detalle del indumento del aquenio. *Inula conyzae*, l-o) Valdeprado del Río, Cantabria (SALA 135803); p-q) Navalvillar de Ica.: A.R. Clapham, Tutin & E.F. Warburg, Fl. Brit. Isles III. 3: 80 fig. 1325 (1963); Fiori & Paol., Iconogr. Fl. Ital. ed. 3: 447 fig. 3566 (1933); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 32, n° 923 II, 5-16 (1853); lám. 3 o-q Ibor, Cáceres (MA 531009): l) inflorescencia; m) capítulo; n) bráctea involucral interna; o) bráctea involucral externa; p) aquenio; q) detalle del indumento del aquenio.



Hierba perenne, en ocasiones bienal, rizomatosa, con rizoma algo grueso, de puberulenta o pubescente a tomentosa o lanosa, con pelos tectores pluricelulares de 0,2-4 mm y glándulas sésiles o subsésiles. Tallos 50-100(150) cm, de (2)3-8 mm de diámetro, erectos, ramificados en la parte superior, pubescentes, vilosos, tomentosos o lanosos, con indumento de densidad variable. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice de la planta, no coriáceas, \pm serruladas o subenteras, a veces enteras –sobre todo las más apicales–, con nervadura reticulada poco prominente, no ciliadas, verdes o verde-grisáceas y de puberulentas a laxamente tomentosas por el haz, de verde-grisáceas a grisáceo-blanquecinas y de vilosas o densamente tomentosas o \pm lanosas por el envés, con pelos tectores y glándulas por ambas caras; las basales (5)7-20(25) x 2-6,6(8) cm, de oblongo-lanceoladas a elípticas u ovado-lanceoladas, agudas u obtusas, atenuadas en un largo pecíolo hasta de 7 cm; las caulinares (1)2-12(22) x (0,3)1-3(5,5) cm, de lanceoladas a elípticas u ovado lanceoladas, agudas, en ocasiones acuminadas, sésiles y cuneadas o atenuadas en un corto pecíolo de 0,5-2 cm, no decurrentes. Sinflorescencia con (20)60-150 capítulos dispuestos en cima corimbiforme \pm densa. Capítulos de (4)6-10 mm de diámetro, sésiles o cortamente pedunculados, con pedúnculos de 1-5(8) mm. Involucro 5-11,5 mm, de (4)6-10 mm de diámetro, \pm cilíndrico; brácteas externas 2-7 x 0,8-1,6 mm, de patentes a erectas y solo el ápice patente o recurvado, lanceoladas o triangular-lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en la mitad o tercio apical, a veces por completo, con margen escarioso de hialino a pardo oscuro o pardo purpúreo, ciliadas en el margen, de subglabras a densamente vilosas o tomentosas, con pelos tectores y glándulas; las internas 7-10(11) x 0,5-0,8(1) mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas, en ocasiones cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte, con margen de hialino a pardo purpúreo, ciliadas en el margen con abundantes pelos tectores rígidos \pm antrorso-aplicados en el margen, de glabras a esparcidamente vilosas en el dorso, con pelos tectores y a veces glándulas. Flores liguladas alrededor de 20-25 por capítulo, corola de 4,5-7 mm, no sobrepasando las brácteas del involucro, con limbo cortísimo –hasta de 1,5 mm y más corto que los estigmas en la antesis–, por lo que se distinguen mal de los flósculos, glabra o con algunos tricomas glandulíferos minúsculos en la cara abaxial. Flósculos con corola de 5-6,2 mm, con tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios (1,8)2-2,5 mm, \pm cilíndricos u oblongoides, no o apenas contraídos en el ápice, con pelos tectores antrorsos, \pm adpresos, en la mitad superior apical. Vilano 6-7 mm, con 25-35 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 32$.

Claros y orlas de bosques subhúmedos y bosques de ribera, sobre sustrato preferentemente calizo; 0-1400 m. (II)V-X(XII). Europa (muy rara en el N), SW de Asia y N de África (Argelia). Principalmente en la mitad N de la Península, extendiéndose por el SE hasta Sierra Nevada y, más aisladamente, por el W hasta Sintra, y Baleares. **And. Esp.:** A Ab Av B Bi Bu C Cc Cs Cu Ge Gr Gu Hu J L Le Lo Lu M Na O Or (P) PM [Mil Mn (Ib)] (Po) S Sa Sg So SS T Te V Va Vi Z. **Port**BA BB BL DL E Mi TM. **N.v.:** bacara de Mompeller, coniza, coniza áspera, enula, garboxo, té purgante; *port.*: danais, tadeqa, tagueda, taveda; *cat.*: àrnica, coniza, ínula coniza, olivarda, volivarda; *eusk.*: kukuso-belar.

9. *I. bifrons* L., Sp. Pl. ed. 2: 1236 (1763)

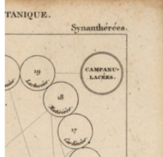
[*bifrons*]

Aster bifrons (L.) All., Fl. Pedem. 1: 197 (1785)

Helenium bifrons (L.) Kuntze, Revis. Gen. Pl. 1: 342 (1891)

I. glomeriflora Lam., Fl. Franç. 2: 150 (1779), nom. illeg.

Pentanema bifrons (L.) D. Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. in Taxon 67



Ind. loc.: “Habitat in Italia, Galloprovincia, Pyrenaeis” [lectótipo designado por A.A. Anderberg in Taxon 47: 363 (1998); LINN 993.11]

Ic.: Bonnier, Fl. Ill. France 6, pl. 303, fig. 1505 (1923); Fiori & Paol., Iconogr. Fl. Ital. ed. 3: 447 fig. 3567 (1933); Rchb., Icon. Fl. Germ. Helv. 16, tab. 32, n° 923 I, 1-4 (1853).

Hierba bienal o perenne, rizomatosa, con rizoma algo grueso, densamente viscosa en casi todas su partes, con abundantes glándulas cortamente pediceladas y bien visibles, de 0,05-0,2 mm, patentes, y algunas glándulas sésiles o subsésiles, y de pubescente a \pm vilosa, en especial en base de la planta, con escasos pelos tectores pluricelulares de 0,2-4 mm que abundan en la base del tallo y hojas basales y son muy escasos en el resto. Tallos 30-100 cm, erectos, ramificados en la parte superior, viscosos en su mayor parte y de pubescentes a vilosos en la base. Hojas dispuestas a lo largo de todo el tallo, disminuyendo de tamaño de manera gradual de la base al ápice, no coriáceas, de subenteras a serradas o serrado-crenadas, con nervadura reticulada prominente, no ciliadas, obtusas o subobtusas, en ocasiones apiculadas, viscosas, verdes por el haz y verdes o ligeramente verde-grisáceas por el envés, con abundantes glándulas cortamente pediceladas y bien visibles por ambas caras y pelos tectores en general muy escasos salvo en los nervios del envés de las hojas basales y a veces junto al margen; las basales 9-17 x 1,2-4,5 cm, anchamente lanceoladas o elípticas, atenuadas en un pecíolo hasta de 8 cm; las caulinares 1,5-10 x 0,6-3,5 cm, de oblongo-lanceoladas a elípticas u ovals, sésiles, claramente decurrentes, en ocasiones las más apicales semiamplexicaules. Sinflorescencia con 20-80 capítulos dispuestos en cima corimbiforme \pm densa. Capítulos de 6-12 mm de diámetro, sésiles o cortamente pedunculados, con pedúnculos hasta de 8 mm. Involucro 9-11 mm, de 5-10 mm de diámetro, \pm cilíndrico; brácteas externas 3-7 x 0,7-1,8 mm, de patentes a erectas y solo el ápice patente o algo recurvado, lanceoladas u oblongo-lanceoladas, enteras, agudas, herbáceas en la mitad o tercio apical, a veces por completo, con margen escarioso de hialino o parduzco, ciliadas o ciliado-glandulosas en el margen, viscosas por completo o parcialmente viscosas y en parte pubescentes, con glándulas y a veces también con pelos tectores cortos; las internas 7-10 x 0,3-1 mm, erectas, lineares o ensiformes, enteras, agudas, en ocasiones cortamente alesnadas, escariosas en su mayor parte, con margen escarioso de hialino o parduzco-rojizo, ciliadas en el margen con abundantes pelos tectores rígidos \pm antrorso-aplicados en el margen, de subglabras a densamente viscosas o algo pubescentes en el dorso, con glándulas y a veces con pelos tectores cortos. Flores liguladas 10-20 por capítulo, corola de 6-10 mm, de algo más cortas a un poco más largas –hasta 2 mm– las brácteas del involucro, con el limbo cortísimo –hasta de 2 mm y algo más corto que los estigmas en la antesis–, con algunos tricomas glandulíferos minúsculos en el ápice de la cara abaxial. Flosculos con corola de 5-7 mm, con tricomas glandulíferos en los dientes. Aquenios 2-2,5(2,8) mm, \pm cilíndricos u oblongoideos, no o apenas contraídos en el ápice, con pelos tectores antrorsos, \pm adpresos, en la mitad superior –rara vez con algunos pelos dispersos en la parte basal–. Vilano 5-6,5 mm, con 30-45 pelos ligeramente soldados en la base. $2n = 16$.

Claros y orla de quejigar, sobre substrato calizo; 850-900 m. VII-IX. S de Europa, desde el C de la Península Ibérica a Bulgaria y Rumania. Alrededores de Sacramenia (Segovia). **Esp.:** Sg.

Observaciones.–Existen referencias antiguas de Asturias y del Pirineo, que fueron recogidas por H.M. Willkomm in H.M. Willk. & J.M.Ch. Lange, Prodr. Fl. Hispan. 2: 43 (1865), así como pliegos



correspondientes a esa última cordillera (MAF 129985, MAF 129986, MAF 129987), pero procedentes de recolectores poco fiables en el etiquetado. Estas referencias ya fueron consideradas dudosas por G. Beck in *Europ. Inula-Art.*: 52 (1882) y posteriormente anuladas [cf. H.M. Willk., *Suppl. Prodr. Fl. Hisp.*: 77 (1893); T. Romero & E. Rico in *Ruizia* 8: 288 (1989)]. Adicionalmente, las floras francesas tampoco señalan esta planta en la vertiente septentrional de los Pirineos, a pesar de lo que podría esperarse de la referencia de la indicación locotípica. Quizá la mención pirenaica de C. Linneo proceda del polinomial de P. Hermann [“*Conyzae pyrenaica, foliis primulae veris*”; cf. P. Hermann, *Parad. Bat.*, 127-128 (1698)]; sin embargo, entre las localidades mencionadas por Hermann sólo se cita de forma general “Gallo Provincia”.

Debido a que la planta se conoce sólo de una localidad en España y con las poblaciones más próximas en el SE de Francia, aparece recogida en la Lista Roja 2008 [cf. J.C. Moreno (coord.), *Lista Roja 2008 de la flora vascular española (2008)*] bajo la categoría “En peligro crítico” y ha sido objeto de un seguimiento especial para el *Atlas de Flora Amenazada Española* [cf. M. Santos-Vicente, M.M. Martínez-Ortega & E. Rico in Á. Bañares & al. (ed.), *Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada de España. Addenda 2010 (2011)*]. Al encontrarse esta única localidad en Segovia, aparece además recogida en el “*Catálogo de Flora Protegida de Castilla y León*” (Decreto 63/2007, de 14 de junio; B.O.C.yL. n°119) como especie “Vulnerable”.

NUEVAS APORTACIONES PARA EL GÉNERO *FILAGO* L. EN LAS COMUNIDADES AUTÓNOMAS DE CASTILLA Y LEÓN Y ARAGÓN

Carlos MOLINA MARTÍN¹, David GUTIÉRREZ LARRUSCAÍN²,
Daniel PINTO CARRASCO², Patricio BARRIEGO HERNÁNDEZ²,
Marcia EUGENIO GOZALBO³ & Santiago ANDRÉS SÁNCHEZ^{2,4}

¹Avda. de Valladolid 44, 8ºB. E-42004 Soria, España.

carlosmolina@ociotur.org

²Dpto. de Botánica y Fisiología Vegetal, U. de Salamanca, Avda. Licenciado Méndez Nieto s.n., E-37007 Salamanca, España. larruscain@usal.es,
dpintocarrasco@usal.es, santiandres@usal.es, barherpa@jcyf.es

³Dpto. de Didáctica de las Ciencias Experimentales, Fac. de Educación, Campus Duques de Soria, U. de Valladolid, C/de la Universidad s.n. E-42004 Soria, España. m.eugenio@agro.uva.es

⁴Dpto de Didáctica de la Matemática y Didáctica de las Ciencias Experimentales, Fac. de Educación, Univ. de Salamanca

RESUMEN: Se aportan cuatro nuevas localidades españolas para dos especies del género *Filago* L. (Gnaphaliales: Asteraceae) poco frecuentes en la mitad septentrional de la Península Ibérica: *Filago crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub y *F. congesta* Guss. ex DC. Tres de estas localidades corresponden a las primeras citas de *F. crocidion* en las comunidades autónomas de Castilla y León (So) y Aragón (Te). También se aporta la primera cita de *F. congesta* para la comunidad autónoma de Castilla y León (So). **Palabras clave:** *Filago congesta*, *Filago crocidion*, España, Aragón, Castilla y León, Soria, Teruel.

ABSTRACT: New citations of the genus *Filago* at the autonomous communities of *Castilla y León* and *Aragón*, Spain. Four new Iberian localities for two species of the genus *Filago* L. (Gnaphaliales: Asteraceae) are provided in this work: *Filago crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub and *F. congesta* Guss. ex DC. Three of these new localities are first citations of *F. crocidion* at the regions of Castilla y León (So) and Aragón (Te). In addition, we provide with the first report of *F. congesta* for the region of Castilla y León (So). **Key words:** *Filago congesta*, *Filago crocidion*, Spain, Aragón, Castilla y León, Soria, Teruel.

INTRODUCCIÓN

El género *Filago* L. engloba en su concepción actual unas 40 especies, de las que 20 están presentes en la Península Ibérica y Baleares y 10 son endémicas o subendémicas en este territorio. A pesar de que en los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento del género gracias a los estudios monográficos de índole filogenética, taxonómica y

corológica (GALBANY & al., 2010; ANDRÉS & al., 2011, 2015a, 2015b), el conocimiento de la distribución ibérica de algunas de las especies aún es insuficiente, especialmente en los casos de taxones más raros o poco frecuentes. Hay que tener en cuenta que muchas de las especies del género son de pequeño tamaño, de ciclo corto y muy influenciado por las características meteorológicas de cada

año, por lo que no es fácil localizarlas (ANDRÉS & al., 2013; 2015b). Además, la delimitación de las especies no es sencilla debido a la escasez de caracteres morfológicos relevantes para su identificación y, también, porque muchos de ellos probablemente estén afectados por fenómenos de homoplasia (ANDRÉS & al., 2015b). Por estas razones, los datos en los trabajos florísticos ibéricos son muy escasos y en ocasiones poco fiables.

En este trabajo se aportan cuatro nuevas localidades para la Península Ibérica de plantas raras o poco frecuentes en la mitad norte de la Península, que corresponden a las primeras citas de *Filago crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub en las provincias de Soria y Teruel y de *Filago congesta* Guss. ex DC. en la provincia de Soria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Filago crocidion (Pomel) Chrtek & Holub (fig.1)

*SORIA: 30TWM1820, Golmayo, carretera entre Aldehuela de Calatañazor y Abejar, cerca del comienzo del camino que lleva a las tainas primeras, 1113 m, claros de sabinar sobre calizas, 28-IX-2013, D. Pinto Carrasco (SALA 150439); 30TVL9370, Retortillo de Soria, Majadas de Peravieja, 1271 m, rañas rezumantes en rellano entre areniscas, 03-V-2015. C. Molina & M. Eugenio (SALA 158952).

*TERUEL: 30TXK1165, Frías de Albarra-cín, la Nava Seca, alrededores de la pista paralela al arroyo de Fuente García hacia el norte del nacimiento del río Tajo, 1504 m, pequeñas depresiones temporalmente inundadas sobre calizas, 19-VI-2016, S. Andrés, P. Bariego, D. Gutiérrez & E. Rico (SALA 158953).

Nuevas localidades de la especie en el entorno del Sistema Ibérico, donde es una planta rara y que sólo había sido citada previamente en localidades de la Serranía de Cuenca (ANDRÉS & al., 2013). Aportamos ahora tres nuevas localidades que corresponden a las primeras citas de la

especie para Castilla y León (Soria) y Aragón (Teruel).

Filago crocidion es una especie restringida a la Península Ibérica (España) y el noroeste de África (Argelia y Marruecos). ANDRÉS & al. (2013) indican que se trata de una especie de distribución disjunta en la Península Ibérica, donde tan solo se conocían tres áreas en el Centro y Sureste - la Serranía de Cuenca (Cuenca), Sierra Nevada (Granada) y sur de la Sierra de Pela (Guadalajara) - a las que habría que añadir las que aportamos ahora.



Fig. 1. *Filago crocidion*.

Filago crocidion se caracteriza por presentar las flores internas del capítulo hermafroditas, funcionalmente masculinas, sin vilano; páleas receptaculares 15-20, dispuestas helicoidalmente; y glomérulos subglobosos recubiertos de un indumento lanoso-algodonoso denso que hace indistinguibles los capítulos. En las localidades que aportamos vive en pastos terofíticos algo ruderalizados en enclaves

con escorrentía temporal o inundaciones periódicas, siempre sobre sustrato básico, formando poblaciones de reducido tamaño y escaso número de individuos.

Filago congesta Guss. ex DC. (fig.2)

*SORIA: 30TWL6984, Fuentelmonge, El Hondo, 832 m, suelo desnudo halonitrófilo junto a majada, 05-VI-2015, C. Molina (SALA158954).

Las cita soriana que aportamos confirma la presencia de esta especie en el ámbito de la comunidad autónoma de Castilla y León, ya que aunque fue citado previamente en la provincia de Burgos (ALEJANDRE & al., 2006) posteriormente se desestimó su presencia (ALEJANDRE & al., 2011; ANDRÉS & al., 2013) ya que el material de respaldo a la cita correspondía a *Filago pyramidata* L. No es un hecho aislado, ya que en la revisión de pliegos de herbario realizada para la elaboración de la síntesis genérica para *Flora iberica*, se han encontrado varios pliegos de individuos poco desarrollados de *F. pyramidata* identificados como *F. congesta* (S. Andrés-Sánchez, obs. pers.). Sin embargo este taxón se caracteriza por presentar flores internas del capítulo hermafroditas, funcionalmente masculinas, sin vilano, mientras que *F. pyramidata* tiene flores femeninas y hermafroditas en el centro del capítulo, y las últimas completamente fértiles y con vilano.

Se trata de una especie de amplia distribución por el Oeste de la región Mediterránea, mientras que en la Península Ibérica se concentra en el Sureste y Levante, penetrando levemente hacia el Oeste por el valle del Ebro hasta las provincias de Teruel y Zaragoza, con unas pocas localidades en La Rioja (ANDRÉS & al., 2013). En la única localidad soriana conocida, esta especie forma una pequeña población en pastos halonitrófilos sobre yesos salinos, donde comparte espacio con plantas como *Frankenia pulverulenta* L., *Atriplex patula* L. y su congénere *Filago pyramidata* L.



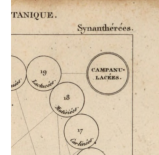
Fig. 2. *Filago congesta*.

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo ha sido financiado en parte por el Ministerio de Economía y Competitividad mediante el proyecto *Flora iberica* (CGL2014-52787-C3-2-P). También queremos agradecer a los profesores E. Rico y C. Urones por su colaboración en el trabajo de campo así como al conservador del herbario SALA, F.J. Hernández.

BIBLIOGRAFÍA

ALEJANDRE, J.A., V. ARÁN, P. BARBADILLO, P. BARRIEGO, J.J. BARREDO, J. BENITO AYUSO, M.J. ESCALANTE, J.M. GARCÍA LÓPEZ, L. MARÍN PADELLANO, G. MATEO, C. MOLINA, G. MONTAMARTA, J.M. PÉREZ DE ANA, S. PATINO, M.A. PINTO & J. VALENCIA (2011) Adiciones y revisiones al Atlas de la Flora vascular silvestre de Burgos, IV. *Flora Montib.* 47: 36-56.

- ALEJANDRE, J.A., J.M. GARCÍA LOPEZ & G. MATEO (2006) *Atlas de la flora vascular silvestre de Burgos*. Amábar S.L., Burgos.
- ANDRÉS SÁNCHEZ, S., M. GALBANY CASSALS, E. BERGMEIER, E. RICO & M.M. MARTÍNEZ ORTEGA (2015a) Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: further evidence of morphological homoplasy. *Plant Syst. Evol.* 301:1653-1668.
- ANDRÉS SÁNCHEZ, S., M. GALBANY CASSALS, E. RICO & M.M. MARTÍNEZ ORTEGA (2011) A Nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed: typification of several names. *Taxon* 60: 572-576
- ANDRÉS SÁNCHEZ, S., D. GUTIÉRREZ LARRUSCAIN, M.M. MARTÍNEZ ORTEGA & E. RICO (2015b) Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 179: 742-754.
- ANDRÉS SÁNCHEZ, S., M.M. MARTÍNEZ ORTEGA & E. RICO (2013) Estudio corológico del género *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) en la Península Ibérica y Baleares. *Bot Complu.* 37:57-78.
- CASTROVIEJO, S. & al. (Coord. Gen.) (1986-2016) *Flora iberica*. Real Jardín Botánico de Madrid, CSIC, Madrid.
- GALBANY CASSALS, M., S. ANDRÉS SÁNCHEZ, N. GARCÍA JACAS, A. SUSANNA, E. RICO & M.M. MARTÍNEZ ORTEGA (2010) How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the “*Filago* group” (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59:1671-1689.
- SEGURA ZUBIZARRETA, A., G. MATEO & J.L. BENITO ALONSO (2010) *Catálogo florístico de la provincia de Soria*. Edición en ebook correspondiente a la 2ª edición en papel, publicada en 2000 por la Diputación Provincial de Soria. Jolube Consultor Botánico y Editor. Soria y Jaca (Huesca). 351pp
- (Rebido el 15-VII-2016)
(Aceptado el 30-X-2016)



Filago desertorum pomel (Asteraceae, Gnaphalieae) en la península ibérica

[*Acta Botanica Malacitana*, en prensa]

David Gutiérrez-Larruscain^{1,2}, Noemí López-González^{1,2}, Daniel Pinto-Carrasco^{2,3} y Santiago Andrés-Sánchez^{2,3*}

1 University of Salamanca, Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Licenciado Méndez Nieto Ave., E-37007 Salamanca, Spain.

2 University of Salamanca, Biobanco de ADN Vegetal, Edificio I+D+i, Espejo st., E-37007 Salamanca, Spain.

University of Salamanca, Departamento de Didáctica de las Matemáticas y de las Ciencias Experimentales, Facultad de Educación, C/Canalejas s/n, E-37008 Salamanca, Spain.

Autor para correspondencia: Santiago Andrés Sánchez, santiandres@usal.es

Palabra clave.— *Filago desertorum*, *Filago castroviejoi*, Almería, Tabernas, Rioja

Keywords.— *Filago desertorum*, *Filago castroviejoi*, Almería, Tabernas, Rioja.

Running title.— *Filago desertorum* Pomel in the Iberian Peninsula

El género *Filago* L. está constituido por c. 40 especies (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011) de las cuales 20 están presentes en la Península Ibérica y Baleares (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013). El conocimiento de la distribución de estas especies resulta en muchos casos difícil, dado que se trata de especies anuales, de pequeño tamaño y cuya germinación se encuentra altamente influenciada por las características meteorológicas de cada año (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013, 2015a; Molina-Martín *et al.*, 2016). Además, existen pocos caracteres morfológicos con valor taxonómico que permitan la identificación de los taxones y probablemente se encuentran afectados por fenómenos de homoplasia (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013, 2015b) lo que dificulta aún más los estudios corológicos en este género debido a los posibles errores en las identificaciones. Por otro lado, los estudios paralelos a la elaboración del tratamiento taxonómico de *Filago* para la obra *Flora iberica* (Castroviejo *et al.*, 1986-2016) han provocado un aumento sustancial en el conocimiento disponible sobre el género desde los puntos de vista filogenético, taxonómico y corológico (*v.gr.*, Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011, 2013).

Entre las especies que componen el género *Filago*, una de las más complicadas tanto en lo que se refiere a su taxonomía como a su distribución es *F. desertorum* Pomel, cuya descripción fue realizada por Pomel (1874) con material recolectado en Argelia. Wagenitz (1968) realizó un estudio pormenorizado de la misma y propuso –como carácter diagnóstico para la especie– la presencia de pelos largos insertos en hileras más o menos paralelas cerca del margen en las páleas internas del involucre. Wagenitz (1968) confirmó

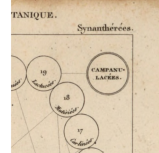


la presencia de *F. desertorum* en la Península Ibérica sobre la base del material estudiado proveniente de una población de plantas que mostraban el carácter diagnóstico para la especie, y que fueron recolectadas en la subida al castillo de Monteagudo (Murcia). A partir de la revisión de Wagenitz, los autores que han trabajado en la Península Ibérica han reconocido la existencia de *F. desertorum* en la Península y además han encontrado nuevas poblaciones de esta especie, ampliando su rango de distribución en el SE de la Península Ibérica (véase Andrés-Sánchez *et al.*, 2013).

Wagenitz (1968) observó una gran variabilidad morfológica entre las plantas identificadas como *F. desertorum*, y sugirió que este taxón podría ser en realidad un compendio de varias especies. Sin embargo, como no encontró ninguna correlación entre los caracteres morfológicos, las áreas geográficas y/o condiciones ecológicas, no describió ninguna especie o subespecie nueva en este complejo taxonómico.

Recientemente, Andrés-Sánchez *et al.* (2015b) mostraron sobre la base de caracteres tanto moleculares como morfológicos, que todas las plantas estudiadas provenientes del NE de Marruecos y la Península Ibérica (incluyendo la población de Monteagudo), previamente identificadas como *F. desertorum*, correspondían a una entidad taxonómica diferente, y describieron una nueva especie para ellas: *Filago castroviejoi* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. [Bot. J. Linn. Soc. 179: 748. 2015]. Por una parte, *Filago castroviejoi* presenta los glomérulos, los capítulos y las páleas externas glabros o subglabros, y los capítulos piramidales con 5 ángulos fuertemente marcados. Por otra parte, *F. desertorum* presenta los glomérulos, capítulos y las páleas externas vilosotomentosos, y los capítulos ovados con 5 ángulos muy poco marcados. Ambas especies comparten el carácter que Wagenitz (1968) había dado como diagnóstico para el complejo de *F. desertorum*: el indumento de las páleas internas del involucre, además, están próximas filogenéticamente, ya que se posicionan en el mismo clado en los estudios moleculares llevados a cabo dentro del género (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015b).

De acuerdo con los resultados de los estudios de Andrés-Sánchez *et al.* (2015b), *F. desertorum* no se encuentra dentro de la Península Ibérica; presenta un área de distribución que comprende el SW de Asia (de Oriente Próximo a la India), el N de África (desde Egipto hasta Marruecos) y las Islas Canarias, y en Marruecos exclusivamente al sur de la cordillera del Atlas. Por otra parte, *F. castroviejoi* se distribuye por el SE de la Península Ibérica (regiones áridas o semiáridas de Albacete, Alicante, Almería y Murcia) y el NE de Marruecos (norte de la cordillera del Atlas) (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Sin



embargo, durante la primavera del año 2017 (del 8 al 11 de abril), se ha recolectado esta especie en varias localidades en las inmediaciones del cauce de la rambla de Tabernas (Almería), a lo largo de unos 10 km entre el pueblo de Tabernas y Rioja (Figuras 1 y 2), lo que confirma la presencia de *F. desertorum* en el SE de la Península Ibérica. El material recolectado se encuentra depositado en el herbario SALA (abreviatura según Thiers, 2017, continuamente actualizado). Todas estas localidades parecen formar un único núcleo metapoblacional que se extiende a lo largo de la rambla de Tabernas, lo que parece indicar que dicha rambla ha funcionado de corredor ecológico para el establecimiento de la especie en esta área. Aparte de estos recientes hallazgos, en una reciente revisión de material de herbario se ha encontrado un pliego anterior (GDA 43584, sub *F. fuscescens* Pomel) que corresponde a *F. desertorum*, con material recolectado asimismo en Tabernas. La zona de la rambla donde se ha encontrado la planta es una de las más áridas de la península, y constituye el límite sureste del Paraje Natural del Desierto de Tabernas, espacio semidesértico que según la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET, 2017) presenta unas precipitaciones medias de 188 mm y unas temperaturas medias de 18,1°C.



Fig. 1. *Filago desertorum*, Tabernas (Almería), Rambla de Tabernas, 08/04/2017 (SALA 160442).

Además de los caracteres indicados anteriormente, los ejemplares ibéricos estudiados de esas dos especies se diferencian también en el número y el color de las páleas; *F. desertorum* presenta solo 20 páleas por capítulo –en el resto de su área de distribución esta especie tiene 20-30– y, en general, teñidas de púrpura en la madurez frente a *F. castroviejoi* que presenta 25-30 páleas por capítulo, que son verdes; rara vez con el margen teñido de púrpura.

Las poblaciones encontradas recientemente de *F. desertorum* constituyen una disyunción muy marcada entre la Península Ibérica y el resto de las poblaciones africanas de esta especie. *Filago desertorum* está evaluado como un taxón casi amenazado en la Lista Roja de la Flora Vasculare Española (Moreno, 2011), sin embargo, los datos utilizados corresponden a *F. castroviejoi* ya que eran las únicas poblaciones conocidas de ambas especies en la Península Ibérica en el momento de la elaboración de la lista. Por estas razones, consideramos que existe la necesidad de evaluar el estado de conservación y las posibles amenazas de esta especie para su inclusión en los catálogos y listas rojas, tanto a nivel nacional como regional, ya que estas localidades son las únicas conocidas en la Península Ibérica y en todo el continente europeo.

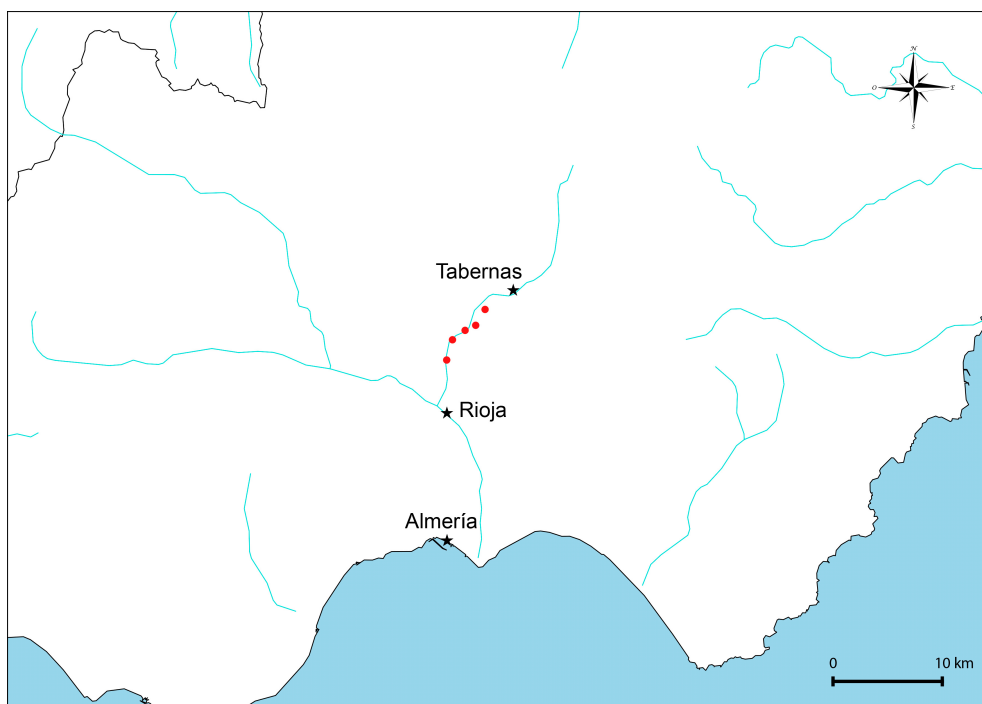
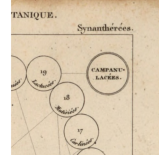


Figura 2. Mapa de distribución de *Filago desertorum* en la Península Ibérica.

Material estudiado de Filago desertorum Pomel

ESPAÑA. **Almería:** Gádor, desembocadura de la Rambla de Lanujar en la Rambla de Tabernas, 30SWF4896, bordes de rambla, 220 m, 09/04/2017, N. López-González, S. Andrés-Sánchez, J. Espinosa, D. Gutiérrez-Larruscain, A. Ivorra, D. Pinto Carrasco & F. Rodríguez NLG163 (SALA 160446); Rioja, Rambla de Tabernas, cerca de la Loma de los Baños, 30SWF4794, matorral subsalino, 200 m, 09/04/2017, N. López-González, S. Andrés-Sánchez, J. Espinosa, D. Gutiérrez-Larruscain, A. Ivorra, D. Pinto Carrasco & F. Rodríguez NLG162 (SALA 160445); Tabernas, entre el puente de las Perdices y el puente sobre la Rambla de los Molinos, 30SWF5198, pastos terofíticos en claros de matorral ralo, 341 m, 11/04/2017, D. Gutiérrez-Larruscain, S. Andrés-Sánchez, N. López-González & D. Pinto Carrasco DG842 (SALA 160444); Tabernas, junto al Parque Temático MiniHollywood, 30SWF5097, borde de carretera y pastos terofíticos en claros de matorral, 308 m, 09/04/2017, N. López-González, S. Andrés-Sánchez, J. Espinosa, D. Gutiérrez-Larruscain, A. Ivorra, D. Pinto Carrasco & F. Rodríguez NLG164 (SALA 160447); Tabernas, MiniHollywood, 30SWF5296, 09/03/1990, G. Blanca, M. Cueto & M. J. Martínez s.n. (GDA 43584); Tabernas, Rambla de Tabernas, 30SWF4996, bordes de camino que baja a la rambla, 251 m, 08/04/2017, D. Pinto Carrasco, S. Andrés-Sánchez, D. Gutiérrez-Larruscain & N. López-González DP2106 (SALA 160442).



Agradecimientos.

A Andrés Ivorra, Francisco Rodríguez «Faluke» y Josefina Espinosa, por su grata compañía y su amabilidad durante nuestra campaña de campo por la provincia de Almería. También queremos agradecer al profesor Enrique Rico su ayuda en la elaboración de este trabajo y al conservador del herbario SALA, Francisco Javier Hernández García, por la gestión del material recolectado de *F. desertorum*. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad mediante el proyecto *Flora iberica* X (CGL2014-52787-C3-2-P).

BIBLIOGRAFÍA

- AEMET.** 2017. *Agencia Estatal de Meteorología (AEMET)*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Gobierno de España. Recurso electrónico en <http://www.aemet.es/es/portada> Consulta realizada en octubre de 2017.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, M., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed. Typification of several names. *Taxon* 60: 572—576.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., MARTÍNEZ-ORTEGA, M. M., & RICO, E.** 2013. Estudio corológico del género *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) en la Península Ibérica y Baleares. *Botanica Complutensis* 37: 57-78.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, M., BERGMEIER, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Further evidence of morphological homoplasy. *Plant. Syst. Evol.* 301: 1653—1668.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN, D., RICO, E., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2015b. Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 179: 742—754.
- CASTROVIEJO, S. & AL. (COORDS. GENS.).** 1986—. *Flora iberica*. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, Spain.
- GALBANY-CASALS, M., ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GARCÍA-JACAS, N., SUSANNA, A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the “*Filago group*” (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671—1689.
- MOLINA MARTÍN, C., GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN, D., PINTO-CARRASCO, D., BARRIEGO HERNÁNDEZ, P., EUGENIO GOZALBO, M., & ANDRÉS-SÁNCHEZ, S.** 2016. Nuevas aportaciones para el género *Filago* L. en las comunidades autónomas de Castilla y León y Aragón. *Flora Montiberica* 65: 57—60.



- MORENO, J. C.** 2011. *Lista Roja de la Flora Vascular Española. Actualización con los datos del Adenda 2010 al Atlas y Libro Rojo de la Flora Vascular Amenazada*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas. Madrid.
- THIERS, B.** 2017 (continuously updated). *Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available: <http://sweetdum.nybg.org/ih/>. (accessed Sep. 2017).
- POMEL, A.** 1874. *Nouveaux matériaux pour la flore atlantique*. Librairie E. Savy, Paris & Juillet St.-Lager, Alger.
- WAGENITZ, G.** 1968. *Filago desertorum* Pomel und *F. hurdwarica* (DC.) Wagenitz, zweiverkannte Arten der 'Filago germanica'-Gruppe aus Nordafrika, Vorder- und Zentralasien. *Willdenowia* 4: 283—298.



Taxonomy and evolution in the clades "*Inula bifrons*" and "*Inula montana*" (*Inula* L.; Asteraceae): Taxonomic position and phylogenetic affinities of the Iberian endemism *Inula langeana* Beck.

UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

•D. Gutiérrez -Larruscain*, M. Santos -Vicente, M.M. Martínez -Ortega & E. Rico.

Department of Botany, University of Salamanca. Campus Miguel de Unamuno, E -37007 Salamanca (Spain)

* E -mail: larruscain@usal.es

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Introduction - *Inula* L. is one of the most species-rich (ca. 100 species) genera from the tribe Inuleae Cass. represented in Eurasia and Africa. The genus as currently circumscribed is a morphologically variable paraphyletic complex (Anderberg & al., 2005; Englund & al., 2009; Nylander & Anderberg, 2015).

The taxonomic position and phylogenetic relationships of the Iberian endemic *I. langeana* Beck has been subject of controversy over a long period of time. *Inula langeana* was mentioned for the first time as *I. suaveolens* by Lange (1861). Later, Beck (1882) supported the autonomy of the Iberian specimens and described *I. langeana* a "pro hybrid" entity (*I. conyzae* Griess. DC. × unknown Iberian *Inula*). Afterwards it was described by several modern authors as a hybrid, using different names and different combinations of putative parental species [Pau, 1904, *I. × gutierrezii* Pau (*I. conyzae* × *I. lutenceus* Pau); Pau 1907, *I. × sennenii* Pau (*I. montana* × *I. conyzae*) or as a subspecies subordinated to *I. conyzae* [Losa & Montserrat, 1953, *I. conyzae* ssp. *sennenii* Pau; Galán Cela 1989, *I. conyzae* ssp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela]. Furthermore, some contemporary authors did other proposals related with the specific status of the taxon (Aseginolaza et al. 1984, *I. sennenii* Pau; Romero & Rico, 1989 *I. langeana* and the instability of the taxonomic status of *I. langeana* related with the fact that this species is morphologically very similar to *I. conyzae* (Figs. 1 and 2), a widespread Eurasian species. Recently, Santos-Vicente & al. (2013) found three different chromosome numbers for *I. langeana* ($2n=32=4x$, $2n=40=5x$ and $2n=48=6x$) within ploidy-level mixed populations. On its side, *I. conyzae* presents a chromosome number published of $2n=32=4x$, and has been traditionally considered related to *I. bifrons*, due to the small size of the ray flowers (Beck, 1882; Anderberg, 1991; among others). We have used here the name "Inula bifrons clade" (Santos-Vicente, 2013) to refer to this group. Our study includes other related taxa of *Inula* distributed over the western Mediterranean i.e., *I. montana* var. *montana*, *I. montana* var. *calycinata* (C.Presl) Batt. and *I. maletii* Maire, for which we use the name "Inula montana clade" (Santos-Vicente, 2013).

General aims of this study: a) Check the taxonomic status of *I. langeana* Beck. through a genetic fingerprint analysis. b) Investigate the relationships among *I. langeana* and the species belonging to "Inula montana" and "Inula bifrons" clades. c) Find quantitative morphological traits to distinguish between *I. conyzae* and *I. langeana*

Material and methods

Genetic fingerprint

SAMPLING: 153 individuals from 30 populations.

AFLP primers pairs: EcoRI-ACT(6-FAM) x MseI-CAG, EcoRI-AGG(VIC) x MseI-CAC and EcoRI-ACC(NED) x MseI-CAT.

AFLP analysis and software used:

- Fragment analysis: GENEMAPPER v4.0 (Applied Biosystems).
- NNet analysis (Fig.3): SplitsTree4 (Huson & Bryant, 2006).
- PCoA analysis (Fig.4): NTSYSpc2.21n (Applied Biostatistics).
- Admixture analysis of the genetic population structure (Fig.5): BAPS 5.2 (Bayesian Analysis of Population Structure; Corander et al., 2003).

Morphometric study:

SAMPLING: 138, up to 25 specimens per taxon (except for *I. maletii* borrowed from ABH, B, BC, BM, G, K, M, MA, MPU, SALA, SEV, RNG, WU, (Thiers, 2015).

VARIABLES: 38 measurable characters related to the leaves (10); involucre, capitula and receptacle (23) and flowers (5).

METHOD: Three measures per character (electronic caliper MITUTOYO, connected to the software CALEXCEL 1.04, VISUAL Basic 4,16 bit version). Average was used as a representative value from each character per sample.

Morphometric analysis and software used:

- PCA (Fig.6): NTSYSpc2.21n (Applied Biostatistics).
- Pearson correlation index and Box-plot graphics (Figs.7 and 8): SPSS17.1



Fig.1: *Inula conyzae* specimen.



Fig.2: *Inula langeana* specimen.



Fig.3: NeighbourNet graphic from the AFLP data.

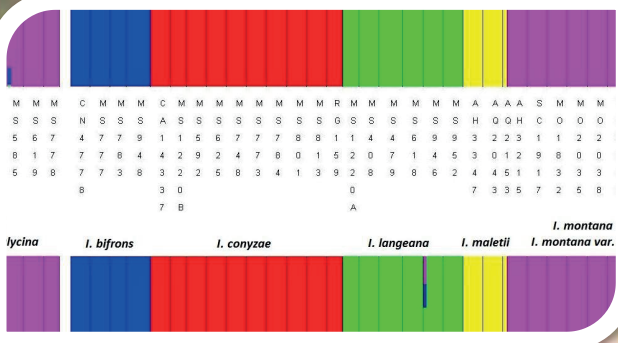


Fig.5: Analysis of the genetic structure of the populations

Result and Conclusions

1. Analyses of population structure (PCoA-MST, NNet and BAPS) based on the AFLP data identified five independent genetic groups, which are in accordance with five traditionally recognized species (Fig. 3, 4 and 5). These five species are distributed in three groups due the existence of a closer genetic affinity between 1) *I. conyzae* and *I. langeana* 2) *I. montana* var. *montana*, *I. montana* var. *calycinata* and *I. maletii*
2. The AFLP data analysis (Fig.5) indicates that *Inula langeana* should be recognized as an independent species. Our data suggest that it is reproductively isolated from the rest of the studied Iberian species of *Inula*
3. In contrast with previous hypothesis our results suggest that *I. conyzae* is genetically closer to *I. langeana* than to *I. bifrons* it is noteworthy that our analyses include individuals identified as *I. langeana* and *I. conyzae* that grow sympatrically.
4. The ratios between the quantitative characters: length of the ray flowers / length of the disk flowers, and length of the external involucre bracts / length of the disk flowers (Figs.7 and 8) seem to be useful quantitative characters to discriminate between *I. conyzae* and *I. langeana*

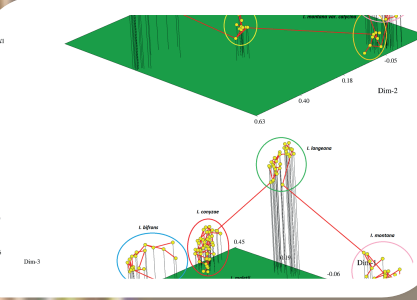


Fig.4: PCoA-MST analysis from the AFLP data.

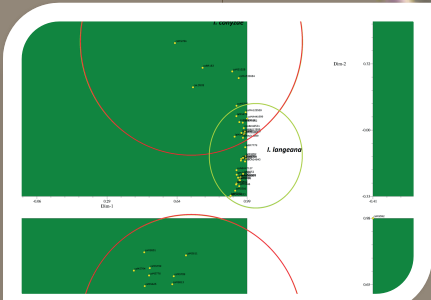


Fig.6: PCA analysis from the morphometric data on the similarity group of *I. conyzae langeana*.

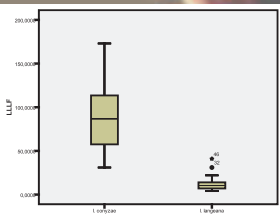


Fig.7: Ratio between the length of the disk flower / length of the external bract of the involucre for *I. conyzae* and *I. langeana*

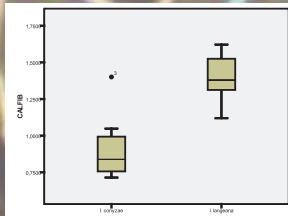


Fig.8: Ratio between the length of the ray flowers / length of the disk flowers for *I. conyzae* and *I. langeana*



References

- ANDERBERG, A.A., ELDENAS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M. 2005. Evolutionary relationships in the tribe Inuleae (incl. Pluchaceae) evidenced by DNA sequences of nrDNA with notes on the systematic position of some aberrant genus. *Organism Diversity & Evolution*: 135-146.
- ASEGINOLAZA, C., GÓMEZ, D., LIZAUR, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRÍA, M.R. & URIBE-ECHEBARRIA, P.M. 1984. *Catálogo florístico de Alava*. Vizcaya y Guipúzcoa. Victoria-Gasteiz. Ed. Gobierno Vasco. 1.149p.
- BECK, G. 1882. Die europäisch-asiatischen Arten. Vienna.
- ENGLUND, M., PORNPONGRUNGRUENG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inuleinae (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics* 2009 25:319-352.
- GALÁN Y CELA P. 1989. Tipificación de dos nombres de Pau y una nueva combinación en el género *Inula* Fontqueria. *Bot. Complut.* 9:9-10.
- LANGE, J.M.C. 1861. *Pugl. Hispan* 2: 83-166. Copenhagen.
- LOSA M, MONTSERRAT P. 1953. Aportación al estudio de la flora de los montes cantábricos. *Anales Bot Madrid* 0 413-509.
- PAU, C. 1904. Nuevas formas españolas de plantas. *Bol Soc Aragonesa. Nat.* 3: 288-293.
- PAU, C. 1907. Formas nuevas de plantas. *Bol Soc Aragonesa. Nat.* 6: 23-30.
- ROMERO, T. & RICO, E. 1989. Flora de la Cuenca del río Duratón. *Ruiza* 8: 1-438.
- SANTOS-VICENTE, M., L. RICO, E. & M. M. MARTINEZ ORTEGA. In *Marshall, K.* 2013. LAP1/IOBP chromosome data. *Taxon* 62: 1360.
- SANTOS-VICENTE, M. 2013. *Estudio de la sistemática de Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca. 383p.
- NYLANDER, S. & ANDERBERG, A.A. 2015. Phylogeny of the Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Pluchaeae. *Taxon* 64 (1): 110-130.
- THIERS B. 2015 (continuously updated). *Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 8 August 2015).

Acknowledgements Many thanks to the colleagues from the department of Botany from the University of Salamanca, especially to Antonio Abad due the lab work. This study is a consequence of previous studies belonging to different phases of the *Flora Iberica* project (phase VII CGL2008-02982-C03-02/CLI, and IX, CGL2011-28613-C03-03). Also other projects have collaborated as SA142A08 or the national projects CGL2009-07555 and cgl2012-32574. We want to appreciate the collaboration of all the herbarium curators than kindly have provided us plant material for our study.

Resurrecting a forgotten species: the case of *Filago longilanata* (Gnaphalieae, Asteraceae).

D. Gutiérrez-Larruscain^{*1,2}, M.M. Martínez-Ortega^{1,2}, E. Rico^{1,2} & S. Andrés-Sánchez^{1,2}.

¹Department of Botany, University of Salamanca – Facultad de Farmacia C/Licenciado Mendez-Nieto s/n CP:37007 Salamanca, Spain

²Biobanco de ADN Vegetal, Banco Nacional de ADN, University of Salamanca – Edificio Multiusos I+D+I C/Espejo, s/n CP:37007, Salamanca, Spain

* E-mail: larruscain@usal.es

VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Introduction- *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter is a species distributed in the semidesertic regions of Morocco. This species was described by Maire and Wilczek in 1934 as *Erax longilanata* Maire & Wilczek based on a single specimen from Tinift (Mequinez-Tafilalet, Morocco, fig 1) preserved at the herbarium MPU (Montpellier). This very rare plant was known until now only from this unique locality (fig 2) and that preserved at MPU represented the only extant herbarium material, although the taxon has been mentioned by several authors (Emberger & Maire, 1941; Fennane & Tattou, 1998; Greuter, 2006). In this work, we present two new populations of *F. longilanata*, perform a complete morphological study, address the question of its phylogenetic placement and provide the first taxonomic key that compares *F. longilanata* with its closest relatives. Finally, the conservation status of the species is evaluated and it is assigned to one of the IUCN three categories.

Material and Methods-

Plant material revision

- SAMPLING: Materials lodged at 31 herbaria were revised in order to check that no specimen of *F. longilanata* was misidentified.

Phylogenetic reconstruction:

- SAMPLING: five samples identified as *F. longilanata* from the new localities (fig 2) + A wider dataset composed by species belonging to the FLAG clade (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015).

- AMPLIFICATION: Ribosomal nuclear DNA regions ITS5 (ITS7 and ITS4 of White *et al.*, 1990) and ETS1 (from Linder *et al.*, 2000; and 18S-ETS from Markos & Baldwin, 2001) were amplified for the five samples of *F. longilanata*.

PHYLOGENETIC ANALYSIS:

• Gap coding: SeqState v1.4.1 (Müller, 2005) with the simple coding of Simmons & Ochoterena (2000).

• Alignment: Geneious v5.5.9 (Biomatters Ltd., 2005-2012) through the MUSCLE algorithm

• Maximum parsimony analysis: TNT v1.1 (Goloboff *et al.*, 2003) applying the traditional search option with equal character weights. 20,000 replicates of random addition sequence and TBR branch-swapping, saving 10 trees per replicate were run out. BS was calculated with 2000 replicates.

• Model selection: JModelTest 2 v2.1.4 (Darriba *et al.*, 2012) under the AIC criterion.

• Bayesian analysis: MrBayes v3.2.0 (Ronquist *et al.*, 2012), MCMCMC was performed in 2 separate runs with four chains per run computing 20 million of generations and sampling each 2000 trees, with a posterior burning of the first 20000 generations.



Fig. 4. *Filago longilanata* - Souss-Massa-Draa, Ourarazate, Amerzagna, Ighrem N'Ougdall, between Tazadoute and Targa. DG685. Photo: S. Andrés-Sánchez

	Number of paleae	Paleae position	Internal paleae with hairs near the margin	Pappus	Internal florets	Achene of the internal florets	Twin-hairs of the indumentum of the achene of the external florets
<i>F. castroviejoi</i>	25-30	5 vertical rows	yes	yes	hermaphrodite	present	short-clavate
<i>F. crocidium</i>	15-20	helicoidally	no	null	functionally male	null	baculate and long-clavate
<i>F. desertorum</i>	25-30	5 vertical rows	yes	yes	hermaphrodite	present	short clavate
<i>F. longilanata</i>	15-20	helicoidally	yes	null	hermaphrodite	present	short-clavate
<i>F. marocitica</i>	25-25	4-5 vertical rows	no	yes	hermaphrodite	present	short-clavate

Tab. 1. Principal morphological differences among the either morphologically or phylogenetically closest species to *F. longilanata*

Identification Key for the "Filago desertorum clade" members

1. Internal paleae glabrous; capitula solitary; paleae 15–25 per capitula *F. marocitica*
- Internal paleae with hairs near the margin; capitula arranged in subglobose clusters; paleae 15–30 per capitula 2.
2. Capitula helicoidal not showing five angles, 15-20 paleae per capitula, pappus null *F. longilanata*
- Capitula pyramidal showing five marked angles, 25-30 paleae per capitula, pappus in hermaphrodite and internal female florets with 12-16 white, scabrid, free bristles..... 3.
3. Clusters, capitula and external paleae glabrous or subglabrous; capitula pyramidal with five strongly marked angles ... *F. castroviejoi*
- Clusters, capitula and external paleae villose-tomentose; capitula ovate with five slightly marked angles..... *F. desertorum*

Distribution area and conservation status- In this work, two new localities for *F. longilanata* are given, Tissint and Amerzagne (fig 2), which are located relatively far from the until now only known one (i.e. 170 km and 190 km far, respectively).

The conservation status of *F. longilanata* is evaluated for the first time. In accordance with IUCN criteria (2001) *F. longilanata* fulfills with the following criteria given in section V: B1 (extent of occurrence estimated is less than 5000 Km²), B2 (the area of occupancy is less than 500 Km²), with subcriteria a (only three populations known) and c(iv) (it is an annual species from arid places that probably shows fluctuating population sizes depending on precipitations) *F. longilanata* should be considered Endangered [EN B1ac(iv)+2ac(iv)].

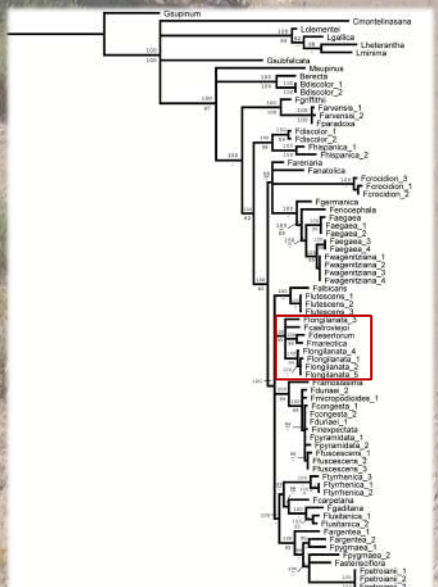


Fig. 3. Phylogenetic position of *F. longilanata* into the FLAG clade. "*Filago desertorum clade*" into the red square (BPP values above the branches and BS values below the branches).



Fig. 1. *Filago longilanata* holotype. MPU008138. From the green dot locality in fig.2.

Fig. 2. *Filago longilanata* distribution map. Red dots: new populations. Ighrem N'Ougdall near Amerzagne (red dot to the north), and Foug Zgaid, near Tissint (red dot to the south). Green dot: holotype locality, Tinift, Mequinez-Tafilalet.

Results and Discussion

Morphological studies- Maire et Wilczek performed an elaborate description of *F. longilanata* (1934). *Filago longilanata* shows high morphological similarities with *F. crocidium* (Pomel) Chrtěk & Holub. These two species are the unique in the genus with 15-20 receptacular paleae arranged helicoidally and lacking a pappus. However in the phylogenetic analysis (fig.3) *F. longilanata* was placed within the "*F. desertorum clade*" and the species shares other characters with members of this clade, i.e. the internal florets are hermaphrodite and the indumentum of the achene of the external florets is composed by short-clavate twin hairs. Table 1 shows the principal morphological differences among the either morphologically or phylogenetically closest species to *F. longilanata*. The morphological similarities between *F. longilanata* and *F. crocidium* could be due either to parallel evolution (homoplasy) or reticulation. Galbany-Casals *et al.* (2010) already hypothesized an ancient hybrid origin for *F. crocidium*. Further studies with different molecular markers (e.g. plastid DNA or AFLPs) are needed to understand the evolution of these species.

Phylogenetic analysis- The five samples of *Filago longilanata* are placed (fig.3) into the well-supported (BPP 100, BS 95) "*F. desertorum clade*" (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015), within *Filago* subg. *Filago*, together with *Filago desertorum* Pomel, *Filago marocitica* Delile and *Filago castroviejoi* Andrés-Sánchez, D. Gut. Larr., M.M. Mart.-Ort. & E. Rico.

Some degree of intraspecific variability was found among the samples of *F. longilanata*. Four of the samples of *F. longilanata* are placed in an unresolved clade (BPP 100, BS 96) within a well supported (BPP 100, BS 95) polytomy together with the previously mentioned species from the "*F. desertorum clade*" and the fifth sample of *F. longilanata*. Intraspecific variation has been also found in other species of *Filago* [e.g. *Filago pygmaea* L. and *F. argentea* (Pomel) Chrtěk & Holub (Galbany-Casals *et al.*, 2010)], even in one belonging to also within species of the same clade [i.e. *F. desertorum* (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015)]. Galbany-Casals *et al.* (2010) and Andrés-Sánchez *et al.* (2015) attributed this intraspecific variation to reticulation, incomplete lineage sorting or to the hypothetical existence of hidden unrecognized taxa within a species.

In our reconstruction, *F. marocitica* was recovered as sister to *F. desertorum* (BPP 100, BS96). A previous phylogenetic NJ (neighbor-joining) tree based on AFLP fingerprint markers (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015) suggested a poorly supported (BS60) sister group relationship between *F. marocitica* and *F. castroviejoi*. In contrast a NNet (neighbour-net) analysis based on the same dataset is more congruent with our results, as it found a shorter genetic distance between *F. marocitica* and *F. desertorum* than between any of these species and *F. castroviejoi*.

References

- ANDRÉS-SÁNCHEZ S., GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN D., MARTÍNEZ-ORTEGA M.M. & RICO E. 2015. Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 179: 742-754
- EMBERGER, L. & MAIRE, R. 1941. *Catálogo des Plantes du Maroc*. vol. 4. Minerva éd., Alger. Supplément général, vol. 1, 2 & 3. p.1141.
- FENNANE, M. & TATTOU, M.IBN. 1998. *Catálogo des plantes vasculaires rares, menacées ou endémiques du Maroc*. *Bocconia* 8: 6-248.
- GALBANY-CASALS M., ANDRÉS-SÁNCHEZ S., GARCÍA-JACAS N., SUSANNA A., RICO E. et MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the "Filago group" (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671-1689.
- GREUTER W. 2008. *Filago*. In: Greuter W. et Raab-Straube E. von (ed.). *Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circummediterranean countries*, vol. 2 Dicotyledones (Compositae: OPTIMA Secretariat, Palermo; Med-Checklist Trust of OPTIMA, Genève; Euro+Med Plantbase Secretariat, Berlin. Pp 218-224.
- IUCN. 2001. *IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1*. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- MAIRE, R. 1934. Contributions à l'étude de la Flore de l'Afrique du Nord. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique N.* 25(7):286-326.

Can we agree on the defining features that make an *Inula* be an *Inula*? Phylogenetic relationships among the European species of *Inula* L. (Asteraceae).

D. Gutiérrez-Larruscain^{1*}, M. Santos-Vicente¹, E. Rico¹ & M.M. Martínez-Ortega¹

¹ Dpto. Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, C/Licenciado Mendez Nieto s/n CP:37007 and Biobanco de ADN Vegetal, Banco Nacional de ADN, - Edificio Multiusos I+D+I C/Espejo, s/n CP:37007, University of Salamanca, Salamanca, Spain

* E-mail: larruscain@usal.es

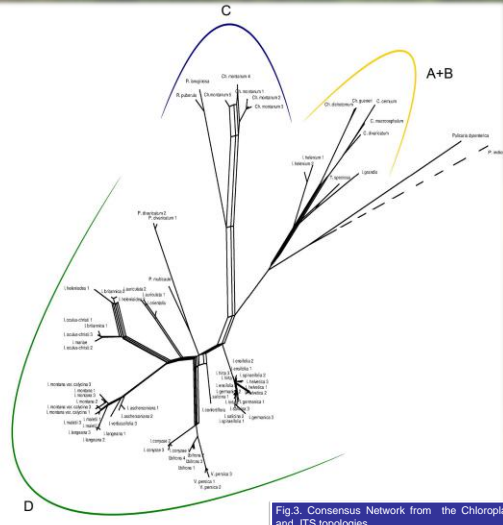


Fig. 3. Consensus Network from the Chloroplast and ITS topologies.

INTRODUCTION

The genus *Inula* L. (tribe Inuleae Cass.) includes ca. 100 species distributed across Europe, Asia and Africa. Currently *Inula* is placed within the "Inula-complex", one of the three evolutionary lineages within subtribe Inulinae (Anderberg, 2009). Several authors have concluded that *Inula* in its current circumscription is paraphyletic (Englund *et al.*, 2009; Santos-Vicente, 2013; Karanović *et al.*, 2016) and currently, there is not overall agreement on what should be the taxonomic boundaries of the genus, neither on which morphologic features should be used to establish them. *Inula helenium* L., "Elecampane," is a well known species to the non-specialist public and the type species of the genus. It belongs to *Inula* sect. *Corvisartia* (Mérat) DC and according to Englund *et al.*, (2009) the members of this section are phylogenetically closer to genera such as *Carpesium* L. or *Telekia* Baum., than to the rest of the species of *Inula*. Here we present 300 new sequences corresponding to 16 European *Inula* species, plus to 25 additional taxa representative of *Inula* and related genera of Inuleae from Africa and Asia. In addition to the careful evaluation of DNA sequence data, the main morphological characters traditionally used for the taxonomy of the genus (e.g. carpological features), as well as data on base chromosome numbers have been revised with the general aim of trying to contribute to establish an agreement on the taxonomic limits of *Inula* and elucidate the phylogenetic relationships among the species traditionally included in this genus.

MATERIAL AND METHODS

Morphological study. An exhaustive revision of ca. 5000 herbarium specimens was carried out in 50 European herbaria. New carpological data were obtained using scanning electron microscopy (SEM). Further data on fruit morphology and chromosome counts were obtained from the available literature.

MATERIAL AND METHODS

Phylogenetic analysis.

-SAMPLING AND DNA SEQUENCING: 75 individuals of 35 species of Inuleae and related genera; ribosomal DNA ITS region and three plastid spacers (i.e., rps16-trnQ, trnL-rpl32 and rpl32-ndhF); 25 sequences (ITS region) corresponding to other Inuleae taken from GeneBank.

-ALIGNMENT AND PHYLOGENETIC RECONSTRUCTION:

- Alignment: Geneious v.5.5.9 (Biomatters Ltd., 2005-2012) using the algorithm MUSCLE.
- Gap coding: SeqState v.1.4.1 (Müller, 2005) with the simple coding of Simmons & Ochoterena (2000).
- Model selection: jModelTest 2 v2.1.4 (Darriba *et al.*, 2012) under the AIC criterion
- Maximum Parsimony Analysis: TNT v1.1 (Goloboff *et al.*, 2003) applying the traditional search option with equal character weight. 20000 replicates of random addition sequence and TBR branch-swapping, saving 10 trees per replicate were run. BS was calculated with 2000 replicates.
- Bayesian Analyses: MrBayes v3.2.0 (Ronquist *et al.*, 2012), MCMCMC was performed in 2 separate runs with four chains per run computing 20 million of generations and sampling each 2000 trees, with a posterior burn-in of 20000 generations.
- Maximum Likelihood Analysis: PhyML (Guindon *et al.*, 2010) implemented in ATGC Montpellier bioinformatics platform (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/>). Tree improvement was performed under the SPR and NNI algorithms. Branch support was calculated through the aLRT SH-like method.
- Consensus Network: SplitsTree4 (Huson & Bryant, 2006).

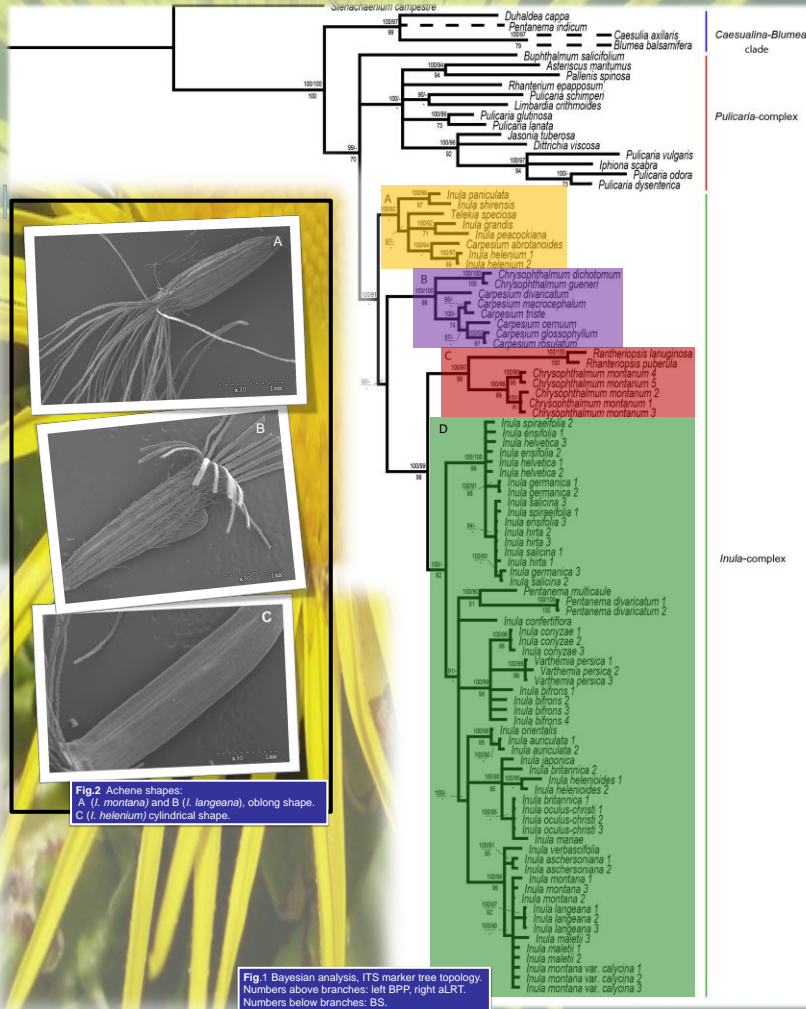


Fig. 2. Achene shapes: A (*I. montana*) and B (*I. longiana*), oblong shape. C (*I. helenium*) cylindrical shape.

Fig. 1. Bayesian analysis, ITS marker tree topology. Numbers above branches: left BPP, right aLRT. Numbers below branches: BS.

RESULTS AND CONCLUSIONS

- Four main clades have been recovered (figure 1), with Clade A (that includes *I. helenium* and related species) in a position basal to the *Inula*-complex.
- Clades B and C include species distributed in the Near and Middle East belonging to the genera *Chrysanthalum* Sch.Bip., *Carpesium* L. and *Rhanteropsis* Rauschert.
- Clade D includes mainly all European species that traditionally have been included in *Inula* (*I.* sect. *Enula* Duby, plus other species of *Inula*, *Varthemia* DC. and *Pentameria* Cass.).
- The members of Clades A and D differ by several carpological features. The achene shows a cylindrical shape in the members of Clade A (fig. 2c), while it is oblong in the species included in Clade D (fig. 2a, 2b). The number of bristles in the pappus is higher (50-80) in *I. helenium* and other species belonging to Clade A (e.g., *I. peacockiana* (Aitch. & Hems.) Korovin, *I. grandis* Schrenk), than in the members of Clade D (ca. 35).
- The species included in Clade A present a base chromosome number $x=10$, in contrast with the species of *Inula* included in clade D, that show $x=8$ as a base chromosome number.
- In the Consensus Network (fig. 3), clades A and B are grouped together maybe due to the incongruent phylogenetic signal of the nuclear and chloroplast markers. Clade C and D are recovered as independent groups.
- There are two ways to keep *Inula* as a monophyletic genus. One possibility would be to lump Clades A, B, C and D together into a large genus *Inula*. The alternative would be transferring the members of Clade D to a different genus. In this case, considering that a proposal to conserve the name *Inula* with a conserved type (Santos-Vicente *et al.*, 2012) has been rejected by the Nomenclature Committee (Appelquist, 2013), the generic name *Inula* should be restricted to the members of Clade A.

ACKNOWLEDGMENTS

This work is product of studies developed under different phases of the project *Flora iberica* (e.g., phase IX, CGL2011-28613-C03-03 and X CGL2014-52787-C3-2-P). Also other projects have collaborated to finance this work (SAI42A08, CGL2009-07555 and CGL2012-32574). We greatly appreciate the collaboration of all the herbarium curators that have kindly provided materials for our study.



Inula montana, Benizar (Spain)



Inula helenium, Trillo (Spain)



Inula germanica, Kazjak Planina (Macedonia)

REFERENCES

- ANDERBERG, A.A., ELDENAS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M. 2005. Evolutionary relationships in the tribe Inuleae (incl. Plucheaee) evidenced by DNA sequences of rDNA: with notes on the systematic position of some aberrant genera. *Organisms, Diversity and Evolution* 5:135-146.
- ANDERBERG, A.A. 2009. Inuleae. In: Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F. & Bayer, R.J. (eds.), *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. Vienna: International Association for Plant Taxonomy. p. 667-680.
- APPELQUIST, W.L. 2013. Repost of the Nomenclature Committee for Vascular Plants:65... *Taxon*. 62(6):1315-1326.
- ENGLUND, M., PORPONGRUEANG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inulinae (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics*. 25:319-352.
- KARANOVIĆ, D., ŽORIĆ, L., ZLATKOVIĆ, B., BOŽA, P. & LUKOVIĆ, J. 2016. Carpological and topological morpho-anatomical characters of *Inula*, *Dittrichia*, *Limbarda* and *Pulicaria* species (Compositae, Inuleae): Taxonomic implications. *Flora*. 219:48-61.
- NYLANDER, S. & ANDERBERG, A.A. 2015. Phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Plucheaee. *Taxon*. 64(1): 110-130.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E. 2012. Proposal to conserve the name *Inula* (Asteraceae) with a conserved type. *Taxon*. 61(6):1330-1331.
- SANTOS-VICENTE, M. 2013. *Estudio biosistemático del género Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca. 383p.
- THIERS, B. 2015. (continuously updated) *Index Herbariorum a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <http://www.nybg.org/virtual-herbarium> (accessed 26 October 2015).

THE GENUS *FILAGO* IN THE NORTH-WEST OF AFRICA

S. Andrés-Sánchez^{1,3}, D. Gutiérrez-Larruscain^{2,3}, M. M. Martínez Ortega^{2,3} & E. Rico^{2,3}



¹ Departamento de Didáctica de la Matemática y Didáctica de las Ciencias Experimentales, Universidad de Salamanca, España
² Departamento de Botánica, Universidad de Salamanca, España
³ Biobanco de ADN Vegetal, Banco Nacional de ADN, Universidad de Salamanca, España
 * santiandres@usal.es



INTRODUCTION

The generic boundaries among *Filago* L. and related genera (e.g. *Evax* Gaertn. or *Logfia* Cass.) are difficult to establish due to the general scarcity of morphological characters and the presence of some degree of homoplasy. In this situation *Filago* has been re-circumscribed recently on the basis of sequence data from nuclear and plastid DNA (Galbany-Casals & al. 2010; Andrés-Sánchez & al. 2011), morphological characters (Andrés-Sánchez & al. 2015) and genome size (Andrés-Sánchez & al. 2013). The genus is considered independent from *Logfia* and enlarged to include *Cymbolaena* Smoljan., *Evacidium* Pomel, *Evax* and *Filago arvensis* L. (*Logfia arvensis* (L.) Holub in many taxonomic treatments). According to these results *Filago* comprises c. 40 species distributed in the Northern hemisphere, with NW-Africa (Morocco, Algeria and Tunisia) as a particularly species rich area with 25 species and a putative centre of diversity. In this work we present the most comprehensive phylogenetic analysis of the genus published until now, as well as a taxonomic review for the genus in NW-Africa. An identification key for the 25 species growing in the study area is provided here for the first time, together with a nomenclatural review that includes the synonyms used in the most outstanding floras and checklists for NW-Africa. Finally, after an exhaustive review of more than 2200 sheets lodged in 25 herbaria a chorological summary is presented.

MATERIAL AND METHODS

Plant material revision: 3000 vouchers lodged at 26 herbaria and all the relevant protologues were revised.
Phylogenetic reconstruction:
 - SAMPLING: A wider dataset obtained from Galbany-Casals *et al.* (2010) and Andrés-Sánchez *et al.* (2015) together with two samples of *F. longilanata* and *F. prolifera*.
 - PHYLOGENETIC ANALYSIS:
 • Alignment: Geneious v5.5.9 (Biomatters Ltd., 2005-2012) through the MUSCLE algorithm
 • Maximum parsimony analysis: TNT v1.1 (Goloboff *et al.*, 2003-2005) applying the traditional search option with equal character weights. 20.000 replicates of random addition sequence and TBR branch-swapping, saving 10 trees per replicate were run out. BS was calculated with 2000 replicates.
 • Model selection: jModelTest 2 v2.1.4 (Darriba *et al.*, 2012) under the AIC criterion.
 • Bayesian analysis: MrBayes v3.2.0 (Ronquist *et al.*, 2003), MCMCMC was performed in 2 separate runs with four chains per run computing 20 million of generations and sampling each 2000 trees, with a posterior burning of the first 20000 generations.

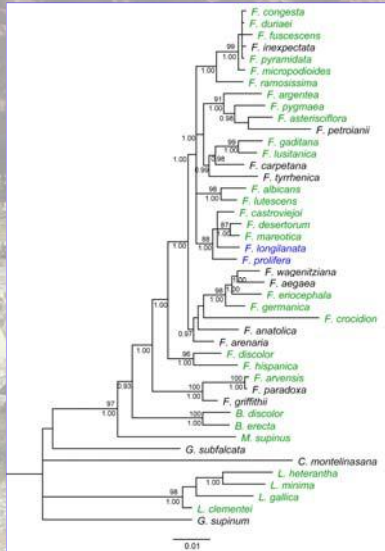


Figure 1: Phylogram obtained from the Bayesian analysis of ITS, ETS and rpl32+trnL intergenic spacer. Bayesian posterior probabilities are indicated below branches and bootstrap values above. Taxa write in green are species growing in the study area and taxa in blue the two species endemic of the NW of Africa. Species included in our study are placed along the whole phylogenetic tree with only a unique clade exclusive of the NW of Africa, where are placed the two species endemic of the study area (*F. longilanata* and *F. prolifera*), the *Filago desertorum* clade (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015).

IDENTIFICATION KEY

1. Involucre present *F. arvensis*.
- Involucre null 2.
2. Receptacular paleae 15, not subsisting florets *F. discolor*.
- Receptacular paleae 10-30 or more than 30, always subsisting florets 3.
3. Receptacle flat *F. hispanica*.
- Receptacle conical or clavate 4.
4. Capitula solitary, arranged like dichasium or pleiochasium in the base and monochasium like a spike in the upper part *F. mareotica*.
- Capitula arranged in clusters at the end of the stem or like monochasium, dichasium or pleiochasium 5.
5. Pappus null or composed by 1-7 caducous bristles 6.
- Pappus present with 12-16 persistent bristles 15.
6. Receptacular paleae arranged helicoidally, receptacle conical 7.
- Receptacular paleae arranged in 5 vertical rows; receptacle clavate 13.
7. Receptacular paleae 15-20 8.
- Receptacular paleae more than 30 9.
8. Receptacular paleae aristate *F. longilanata*.
- Receptacular paleae acute *F. crocidion*.
9. Achenes covered by only one kind of trichomes 10.
- Achenes covered by two kinds of trichomes 12.
10. Involucrant leaves linear-elliptic to elliptic 11.
- Involucrant leaves spatulate to obovate *F. pygmaea*.
11. Involucrant leaves linear-elliptic to linear-oblancoleate *F. argentea*.
- Involucrant leaves lanceolate to elliptic *F. asterisciflora*.
12. Achenes covered by papillae and short trichomes *F. gaditana*.
- Achenes covered by short and long trichomes *F. lusitanica*.
13. External receptacular paleae aristate *F. congesta*.
- Receptacular paleae all without arista 14.
14. Indumentum of the capitula villose-tomentose very compact *F. micropodioides*.
- Indumentum of the capitula silky appressed, lax *F. duriaei*.
15. Receptacular paleae more than 30, arranged helicoidally *F. mauritanica*.
- Receptacular paleae 15-30 arranged in 5 vertical rows 16.
16. Receptacular paleae 15-20 17.
- Receptacular paleae 25-30 23.
17. Leaves of the stem all linear-lanceolate to lanceolate 18.
- Leaves of the stem oblong to spatulate or obovate, sometimes lanceolate in the upper part of the plant above the first cluster 19.
18. External receptacular paleae aristate *F. germanica*.
- External receptacular paleae acute or slightly acuminate *F. eriocephala*.
19. Plant acaulescent; leaves tapering in the base like a petiole *F. prolifera*.
- Plant always with stem developed; leaves sessile 20.
20. Clusters with more than 10 capitula 21.
- Clusters up to 10 capitula 22.
21. Achenes of the external florets covered by papillae *F. lutescens*.
- Achenes of the external florets glabrous or with few papillae dispersed *F. albicans*.
22. Capitula 2,5-3 mm, ovoid with 5 slightly marked angles *F. ramosissima*.
- Capitula 4-4,5 mm, pyramidal with 5 strongly marked angles *F. fuscescens*.
23. Internal receptacular paleae with hairs near the margin 24.
- Internal receptacular paleae glabrous *F. pyramidata*.
24. Clusters, capitula and external paleae glabrous or subglabrous *F. castroviejoi*.
- Clusters, capitula and external paleae villose-tomentose *F. desertorum*.

TAXON	MOR	ALG	TUN
<i>Filago albicans</i> Andrés-Sánchez, M.M. Mart. Ort. & E. Rico			
= <i>Filago lutescens</i> subsp. <i>atlantica</i> Wagentz			
<i>Filago argentea</i> (Pomel) Chrték & Holub			
= <i>Evax argentea</i> Pomel			
= <i>Filago sahariensis</i> Chrték & Holub (<i>Evax desertorum</i> Pomel)			
= <i>Filago linearifolia</i> (Pomel) Chrték & Holub			
= <i>Filago pollanthea</i> (Pomel) Chrték & Holub			
<i>Filago arvensis</i> L.			
<i>Filago asterisciflora</i> (Lam.) Sweet			
<i>Filago castroviejoi</i> Andrés-Sánchez, D. Gut. Larr., E. Rico & M.M. Mart. Ort.			
<i>Filago congesta</i> Guss., ex DC.			
= <i>Filago polycerchala</i> (Pomel) Wagentz			
<i>Filago crocidion</i> (Pomel) Chrték & Holub			
= <i>Evax crocidion</i> Pomel			
= <i>Filago nevadensis</i> (Boiss.) Wagentz & Greuter			
<i>Filago desertorum</i> Pomel			
<i>Filago discolor</i> (DC.) Andrés-Sánchez & Galbany			
= <i>Evacidium discolor</i> (DC.) Maire			
<i>Filago duriaei</i> Cass. ex Lange			
<i>Filago eriocephala</i> Guss.			
<i>Filago fuscescens</i> Pomel			
= <i>Filago cuneata</i> Lejac			
<i>Filago gaditana</i> (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany			
= <i>Filago pygmaea</i> subsp. <i>ramosissima</i> (Mariz) R. Fern. & I. Nogueira			
= <i>Evax pygmaea</i> var. <i>maroccana</i> Braum-Blang & Maire			
= <i>Evax caryophylla</i> subsp. <i>maroccana</i> (Braum-Blang & Maire) Dobignard			
<i>Filago germanica</i> (L.) Huds.			
= <i>Filago numidica</i> Pomel			
<i>Filago hispanica</i> (Degen & Hieron ex Pau) Chrték & Holub			
<i>Filago longilanata</i> (Maire & Wilce) Greuter			
<i>Filago lusitanica</i> (Samp.) P. Silva			
<i>Filago lutescens</i> Jord.			
<i>Filago mareotica</i> Delile			
<i>Filago mauritanica</i> (Pomel) Dobignard			
<i>Filago micropodioides</i> Lange			
<i>Filago prolifera</i> Pomel			
<i>Filago pygmaea</i> L.			
= <i>Evax pygmaea</i> (L.) Brot.			
= <i>Filago mucronata</i> (Pomel) Chrték & Holub			
<i>Filago pyramidata</i> L.			
= <i>Filago obovata</i> Pomel			
= <i>Filago lojacanoi</i> (Brullo) Greuter			
<i>Filago ramosissima</i> Lange			

Table 1: Nomenclatural and chorological review of the 25 species growing in the NW of Africa. Accepted name are writing in bold and the synonyms used in the most outstanding floras and checklist for the study area are writing below. Columns on the right indicate the presence (green) or the absence (red) of the taxa in Morocco (MOR), Algeria (ALG) and Tunisia (TUN). * indicate bibliographic references.

REFERENCES

Andrés-Sánchez S, Galbany-Casals M, Bergmeier E, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: further evidence of morphological homoplasy. *Plant Systematics and Evolution* 301: 1653–1668.

Andrés-Sánchez S, Galbany-Casals M, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed. Typification of several names. *Taxon* 60: 572–576.

Andrés-Sánchez S, Gutiérrez-Larruscain D, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2015. Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 179: 742–754.

Andrés-Sánchez S, Tensch E, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2013. Genome size in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: phylogenetic, evolutionary and ecological implications. *Plant Systematics and Evolution* 299: 331–345.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods* 9: 772–772.

Galbany-Casals M, Andrés-Sánchez S, García-Jacas N, Susanna A, Rico E, Martínez-Ortega MM. 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the "Filago group" (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671–1689.

Goloboff PA, Farris JS & Nixon K 2003-2005. TNT: Tree Analysis Using New Technology, version 1.1. Program and documentation, available from the authors, and at <http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/>.

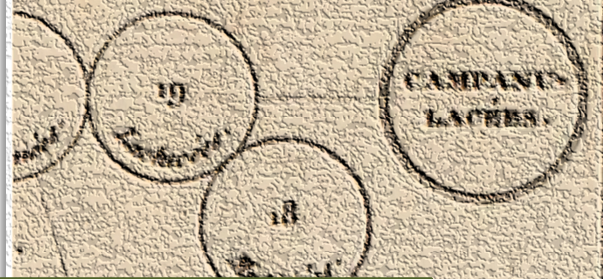
Ronquist F & Huelsenbeck JP. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.

ACKNOWLEDGEMENTS

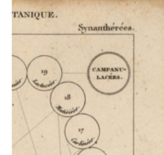
This work fits within the project Flora iberica and was supported by the Spanish "Ministerio de Economía y Competitividad" (<http://www.mineco.gob.es/>) through different phases of the project (the last CGL2014-52787-C3-2-P). We are grateful to the curators of the herbaria for granting access to their collection.

TANIQUE.

Synanthérées.



RESUMEN



I. Introducción

Una de las líneas de investigación desarrollada por el GIR (Grupo de Investigación Reconocido) BIOCONS (Biodiversidad, Sistemática y Conservación de Plantas Vasculares y Hongos) con sede en el Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal de la Universidad de Salamanca, es la caracterización de la diversidad florística existente en la Península Ibérica e Islas Baleares a través de una participación continuada en el proyecto nacional *Flora iberica*. Esta línea de trabajo ha permitido el desarrollo de dos tesis doctorales que han precedido y motivado los trabajos incluidos en esta memoria doctoral.

El género *Inula* L. en su circunscripción tradicional (Anderberg, 2009), abarca cerca de 100 especies distribuidas por los continentes del Viejo Mundo y algunas naturalizadas en América. La especie tipo designada para el género es *I. helenium* L. (Hitchcock & Green, 1929). Las especies pertenecientes a este género son en su gran mayoría hierbas perennes, o excepcionalmente plantas de porte arbustivo. Los capítulos, generalmente radiados y que llevan llamativas flores amarillas, se caracterizan por poseer varias filas imbricadas de brácteas externas, carecer de páleas en el receptáculo; y los aquenios presentan un vilano simple con pelos escábridos. En la actualidad es aceptado que la circunscripción del género *Inula* es parafilética en su sentido tradicional (Anderberg, 1991b; Englund *et al.*, 2009) sobre la base de diferentes caracteres morfológicos, cariológicos y moleculares.

En cuanto al otro género objeto de esta tesis, *Filago* L., engloba aproximadamente 45 especies (Galbany-Casals *et al.*, 2010) distribuidas en Europa, Asia y el Norte de África, y algunas introducidas y más o menos naturalizadas en otras partes del mundo. La especie tipo del género *Filago* es *F. pyramidata* L. (Hitchcock & Green, 1929). Se caracterizan por ser pequeñas hierbas anuales. Los capítulos se disponen en una sinflorescencia más o menos contraída, en forma de glomérulos subglobosos o pulviniformes que rodeados por las hojas involucrantes, actúan en su conjunto como un capítulo secundario; generalmente, los capítulos han perdido las brácteas del involucre, cuya función ha sido asumida por la paleas del receptáculo, las cuales se han desarrollado considerablemente, presentan frecuentemente una flor filiforme en la axila y se disponen bien en filas verticales, o bien de manera helicoidal, rodeando en su conjunto a un grupo de flores hermafroditas (en ocasiones funcionalmente masculinas) que se sitúan en el centro de la inflorescencia. El corto ciclo de vida que presentan las especies de *Filago* – marcadamente condicionado por el régimen anual de precipitaciones– y el pequeño tamaño de estas plantas, junto con la ausencia de caracteres diagnósticos netos en algunas especies, han contribuido a dificultar

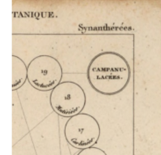


la delimitación taxonómica del género y a provocar frecuentes errores de determinación que han oscurecido el discernimiento de ciertos taxones.

Actualmente, el género *Inula* se clasifica en la tribu Inuleae Cass., mientras que *Filago* pertenece a la tribu Gnaphalieae (Cass.) Lecoq & Juill. No obstante, las posibles afinidades taxonómicas de los géneros *Inula* y *Filago* han sido interpretadas de diferentes maneras por los distintos autores a lo largo de la historia. En ciertos momentos fueron considerados géneros que estaban relativamente próximos, siendo clasificados en muchas ocasiones en la misma tribu (Inuleae *sensu* Cassini, 1822; Bentham, 1873; Merxmüller *et al.*, 1977. Astereae *sensu* Lessing, 1832). Anderberg (1989) realizó un análisis cladístico de toda la tribu Inuleae *sensu* Merxmüller *et al.* (1977), y sobre la base de sus resultados la dividió en tres tribus: Inuleae, Gnaphalieae y Plucheae. La clasificación de Anderberg (1989) ha sido apoyada por análisis moleculares posteriores (Kim & Jensen, 1995; Eldenäs *et al.*, 1999) y constituye el tratamiento seguido por Funk *et al.* (2009), la obra actual de referencia para el estudio de las Compuestas.

Uno de los problemas taxonómicos del género *Inula* es su delimitación. Diversos trabajos (Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009; Nylinder & Anderberg, 2015) basados en el análisis de diferentes datos moleculares (principalmente secuencias espaciadoras del ADN ribosómico nuclear y de regiones del ADN plastidial) han reafirmado el estatus parafilético del género *Inula* en su circunscripción tradicional. En estos trabajos *I. helenium* siempre se recupera en una posición filogenética más cercana a otros géneros (*v.gr.*, *Carpesium* L., *Telekia* Baumg.) del *Inula complex* (*i.e.*, *Amblyocarpum* Fish. & C.A.Mey, *Carpesium*, *Chrysophthalmum* Sch. Bip., *Inula*, *Pentanema* Cass., *Rhanteriopsis* Rauschert, *Telekia* y *Varthemia* DC.) que a un gran grupo de especies pertenecientes a *Inula* con distribución euroasiática [*v.gr.*, *I. conyzae* (Griess.) Meikle, *I. montana* L., *I. bifrons* L., *I. oculus-christi* L. entre otras].

Otro de los problemas taxonómicos en este género está relacionado con la variabilidad de ciertos caracteres morfológicos en algunas especies del género *Inula* (*v.gr.*, indumento, forma de la hoja). Esto queda patente en el trabajo de varios autores, pues ha dado pie a la descripción de numerosas especies, híbridos, o formas de escasa validez dentro de la variabilidad morfológica de una especie determinada ya bien reconocida. Por citar un ejemplo, en el caso de la Península Ibérica destacan los trabajos de Carlos Pau Español, que a lo largo de su prolija producción florística-taxonómica describe 20 taxones diferentes que actualmente están en sinonimia de *I. helenioides* DC (*v.gr.*, *I. asteriscus* Pau, *I. casaviellae* Pau, *I. hispanica* Pau, *I. stenophylla* Sennen & Pau, *I. turolensis* Pau). En otros casos, el estatus taxonómico de ciertas plantas ha estado en entredicho debido a similitudes morfológicas con especies de distribución más amplia. Esta situación viene



representada por la especie *I. langeana* Beck que ha sido descrita como híbrido [v.gr., *I. x senenii* Pau (= *I. montana* x *I. vulgaris*); *I. x gutierrezii* Pau (= *I. conyzae* x *I. lutescens*)] o subordinada en el nivel de subespecie [i.e., *I. conyzae* subsp. *senenii* Pau; *I. conyzae* subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela] aunque autores contemporáneos ya la consideran en el nivel taxonómico de especie (i.e., Aseginolaza *et al.*, 1984, *I. senenii* Pau; Romero & Rico, 1989, *I. langeana*; Santos-Vicente, 2013).

Todavía no ha sido aceptado ningún tratamiento alternativo para el *Inula complex* que refleje de manera correcta las relaciones evolutivas de los géneros que lo integran, a pesar del estatus parafilético tanto de *Inula* como de *Pentanema*. Tampoco existe ningún estudio pormenorizado que confirme la identidad de algunos taxones ibéricos y su posible origen, ni que explique las relaciones filogenéticas existentes entre los mismos.

La delimitación de *Filago* y de los géneros afines a *Filago* ha variado de forma considerable a lo largo de la historia. Esto se debe principalmente a causa de las similitudes morfológicas que presentan las plantas adscritas a este grupo (*Filago group sensu* Anderberg, 1991a). Galbany-Casals *et al.* (2010) presenta la primera filogenia molecular para el grupo *Filago* y propone un nuevo tratamiento para *Filago*, el cual se desarrolla en Andrés-Sánchez *et al.* (2011). En este tratamiento, se reconocen cuatro subgéneros diferentes dentro de *Filago*: *F.* subgen. *Crocidion* Andrés-Sánchez & Galbany, *F.* subgen. *Filago*, *F.* subgen. *Oglifa* (Cass.) Gren. y *F.* subgen. *Pseudevax* (DC.) Andrés-Sánchez & Galbany. Este tratamiento ha sido apoyado por trabajos posteriores realizados con datos del tamaño genómico (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b) y de la morfología del aquenio (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). A pesar de que estos trabajos contribuyeron a ampliar netamente el conocimiento sobre el género, parece necesario incluir un mayor número de muestras en futuros análisis filogenéticos, ya que la gran plasticidad morfológica de las especies de este grupo complica su delimitación (Wagenitz, 1969; Galbany-Casals *et al.*, 2010) y debido también a que, en algunos casos (Galbany-Casals *et al.*, 2010), se ha encontrado cierto grado de diversidad molecular intraespecífica. Es de especial interés ampliar el esfuerzo de muestreo en los clados escasamente representados en futuros análisis. En adición, la escasa resolución que presentan los marcadores moleculares utilizados en estos estudios anteriores no permite discernir las relaciones de parentesco entre cada uno de los clados identificados para *F.* subgen. *Filago*, razón por la que es preciso buscar un marcador molecular que muestre mayor variabilidad en dicho nivel de estudio.



A partir de los conocimientos previos que poseíamos acerca de los géneros *Inula* y *Filago* al inicio de esta tesis doctoral, se plantea para el desarrollo de la misma el cumplimiento de los siguientes objetivos:

- 1- Comprobar el estatus monofilético del *Inula complex* (*sensu* Englund *et al.*, 2009) mediante una filogenia molecular que incluya un mayor número de especies y un mayor número de individuos por especie que las anteriormente publicadas por otros autores, analizar las relaciones filogenéticas existentes entre dichas especies y evaluar el estatus monofilético de las mismas.
- 2- Realizar las propuestas nomenclaturales pertinentes para obtener una delimitación monofilética de los géneros que componen el *Inula complex* y explorar la variabilidad morfológica de los mismos con el fin de buscar caracteres que apoyen esas decisiones taxonómicas.
- 3- Efectuar un análisis de variabilidad y estructuración genética a nivel interespecífico, así como una revisión de material de herbario de las especies de *Inula* incluidas en el "*Inula conyzae clade*", distribuidas en el Mediterráneo occidental. Tratar de confirmar si dichas especies son o no monofiléticas, conocer los procesos implicados en la evolución del grupo y proponer claves para las especies cuya identificación ha resultado tradicionalmente más difícil.
- 4- Realizar una revisión morfológica en las especies pertenecientes al "*Filago desertorum clade*" –*F. desertorum* y *F. mareotica*– y explorar su variabilidad genética en la Península Ibérica y Norte de África mediante un marcador de huella genética tipo AFLP. Confirmar o no la monofilia de dichas especies.
- 5- Investigar la posición filogenética de otras especies norteafricanas de *Filago* no incluidas en trabajos anteriores y realizar un tratamiento nomenclatural y descripciones completas para dichas especies.
- 6- Desarrollar un marcador molecular tipo SSR (Simple Sequence Repeat) que presente la variabilidad necesaria para resolver las relaciones de parentesco entre los diferentes clados reconocidos en *F.* subgen. *Filago sensu* Galbany-Casals *et al.* (2010).



II. Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*. *Taxon.* en prensa.

La tribu Inuleae está formada por dos linajes principales: las subtribus Inulinae y Plucheinae. Las especies incluidas dentro de Inulinae poseen un cristal de oxalato en cada una de las células de la epidermis del aquenio, carácter considerado sinapomorfía de grupo para Inuleae-Inulinae (Eldenäs *et al.*, 1999; Anderberg *et al.*, 2005). La circunscripción de la mayoría de los géneros incluidos en Inuleae-Inulinae es problemática (Englund *et al.*, 2009), y muchos de ellos –incluido *Inula*– son parefiléticos en su circunscripción actual (Nylinder & Anderberg, 2015). Por esta razón, en este trabajo se pretende investigar la posición filogenética de las especies europeas de *Inula* dentro del *Inula complex* y explorar que procesos and intervenido en la diversificación del grupo. A partir de estos datos se intenta establecer la circunscripción de los distintos géneros que conforman el complejo así como proponer las combinaciones que sean necesarias.

En este trabajo se presenta una filogenia de las especies incluidas en el *Inula complex* (Englund *et al.*, 2009) con particular énfasis en aquellas distribuidas en Europa. Para este trabajo se seleccionó una región del ADN ribosómico nuclear (ITS) y tres regiones espaciadoras del ADN plastidial (*trnQ-rps16*, *trnL-rpl32* and *rpl32-ndhF*). Se analizaron un total de 324 secuencias de ADN, de las cuales se generaron en este trabajo 294. Se evaluaron las relaciones evolutivas entre las muestras incluidas en el estudio mediante dos aproximaciones. En la primera se comprobó la posición filogenética de las especies europeas de *Inula* dentro del *Inula complex*. Con este objetivo se seleccionaron como set de datos En (dataset 1) 99 muestras correspondientes a 59 taxa, cubriendo cerca del 25% de la representación de las especies aceptadas actualmente en *Inula* [*i.e.*, todas las especies de *Inula* europeas y del norte de África junto con *I. orientalis* Lam., *I. auriculata* Wall., *I. grandis* Schrenk, *I. peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) Korovin e *I. mariae* Bordz. como especies provenientes de Asia; e *I. confertiflora* A. Rich., *I. shirensis* Oliv. e *I. paniculata* (Klatt) Burt Davy como especies representantes del centro y sur de África]. Además se analizaron la mayoría de especies que componen el resto de géneros incluidos en el *Inula complex* [*i.e.*, *Carpesium* (8 de las 25 especies que componen el género), *Chrysophthalmum* (3 de las 5 especies del género), *Rhanteriopsis* (2 de las 4 especies del género), junto con los géneros monoespecíficos *Telekia* y *Varthemia*]. El único género no incluido en el estudio fue *Amblyocarpum* compuesto por una especie distribuida en la zona del Mar Caspio. Como grupos hermanos se incluyeron varias especies del *Pulicaria complex* y del *Caesulina-*

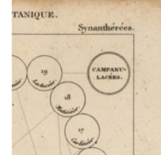


Blumea clade. Finalmente, se eligió *Stenachaenium campestre* Baker, especie perteneciente a la subtribu Inuleae-Plucheinae como grupo externo para enraizar el árbol filogenético.

En la segunda aproximación se analizaron 73 muestras correspondientes a 34 especies pertenecientes al *Inula complex* e incluidas en los análisis de la primera aproximación (dataset 2) con el objetivo de comprobar la existencia de posibles incongruencias entre las topologías obtenidas a partir de los dos tipos de marcadores (ADN nuclear y ADN plastidial). Para este segundo análisis se designó *Pulicaria dysenterica* Gaertn. (perteneciente al *Pulicaria complex*) y *Pentanema indicum* (L.) Y.Ling [especie recuperada en el *Duhaldea-Caesulia-Blumea clade* (Englund *et al.*, 2009)] como grupo externo.

Para el *dataset 1* resultaron congruentes las topologías obtenidas mediante el análisis bayesiano (BA), el análisis de máxima parsimonia (ML), y el análisis de máxima verosimilitud (ML). La subtribu Inulinae y el *Inula complex* se recuperan como grupos monofiléticos, por lo menos para el análisis BA y en congruencia con estudios anteriores (Eldenäs *et al.*, 1998; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*; 2009). Se pueden distinguir cuatro clados diferentes en el *Inula complex*. El clado A incluye *I. helenium* junto a otras cuatro especies pertenecientes a *Inula* (*i.e.*, *I. grandis*, *I. shirensis*, *I. paniculata* and *I. peacockiana*) y *Telekia speciosa*. *Inula grandis* e *I. peacockiana* se recuperan juntas, en una relación de grupo hermano a la especie *Telekia speciosa*. El clado B incluye dos especies de *Chrysophthalmum* junto a seis especies de *Carpesium* en una relación no resuelta. Los clados C y D se recuperan en una relación bien apoyada como grupos hermanos. El clado C contiene dos especies de *Rhanteriopsis* claramente recuperadas como monofiléticas, y cinco muestras de la especie *Chrysophthalmum montanum* (DC.) Boiss. Finalmente, el clado D contiene el resto de especies europeas consideradas en *Inula* junto con otros taxones provenientes de Asia y de África.

Este clado D está formado por dos subclados. El subclado D1 contiene un grupo de especies diploides *Inula spiraeifolia* L., *I. ensifolia* L., *I. helvetica* Weber, *I. germanica* L., *I. salicina* L. e *I. hirta* L. Este grupo de especies ya ha sido reconocido por otros autores en trabajos anteriores, sobre la base de caracteres morfológicos y moleculares (Beck, 1882; Anderberg, 1991b; Englund *et al.*, 2009). El clado D2 está formado por un grupo de especies poliploides ordenadas en cuatro grupos. El primero de estos incluye dos especies de *Pentanema* (*i.e.*, *P. multicaule* Boiss. and *P. divaricatum* Cass.). El segundo está formado por *I. confertiflora*, especie distribuida en el Cuerno de África. El tercero es un subclado que contiene especímenes de *I. conyzae*, *I. bifrons*. and *Varthemia persica* DC. Finalmente, el cuarto y último grupo está compuesto por tres clados menores: el primero incluye las especies *I. orientalis* e *I. auriculata*; el segundo está formado por *I. britannica*, *I. helenioides*,



I. oculus-christi e *I. mariae*; y el tercer y último subclado está compuesto por *Inula verbascifolia* Hausskn., e *I. aschersoniana* Janka, plantas de la Península Balcanica y Anatolia junto con *I. montana*, *I. langeana* Beck e *I. maletii* Maire, un conjunto de especies endémicas del Mediterráneo occidental.

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los trabajos publicados con anterioridad (Anderberg *et al.*, 2005; Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Englund *et al.*, 2009; Santos-Vicente, 2013; Nylinder & Anderberg, 2015) y demuestran que el *Inula complex* es monofilético, y que sin embargo algunos géneros incluidos en él son parafiléticos (*i.e.*, *Chrysophthalmum*, *Inula* y *Pentanema*). Por esta razón, los géneros *Inula* y *Pentanema* han sido considerados por algunos autores como géneros “cajón de sastre” (Duman & Anderberg, 1999) dentro del *Inula complex*.

Hay una serie de caracteres que permiten distinguir *I. helenium* del resto de especies recuperadas en el clado D. *Inula helenium* presenta canales resiníferos en el tallo a diferencia de las especies recuperadas en el clado D que no los tienen. Las brácteas externas del involucreo en *I. helenium* son de ovado a ovado-trapezoidales y de mayor tamaño que las de las especies recuperadas en el clado D, cuyas brácteas externas son de menor tamaño y de linear a ovado-lanceoladas. También difieren en el tamaño y la forma del aquenio; en *I. helenium* los aquenios son prismáticos (tetragonales) y de un tamaño de 3 – 4 [5] mm de largo/longitud, mientras que en las especies recuperadas en el clado D los aquenios son oblongos o ligeramente comprimidos en el ápice y de 0.5 – 3 mm de largo. El número de pelos en el vilano es mayor en *I. helenium* (50 – 80 [65]) que en las especies recuperadas en el clado D (<45). Finalmente, *I. helenium* tiene un número básico de cromosomas de $x = 10$, mientras que los recuentos disponibles para las especies recuperadas en el clado D indican un número básico de cromosomas de $x = 8$, una clara sinapomorfía de este grupo.

A raíz de los resultados obtenidos se propone una nueva delimitación para *Inula* y *Pentanema*. Dado que la especie tipo de *Pentanema* es *P. divaricatum*, y las muestras correspondientes a esta especie se recuperan en el clado D junto con el resto de representantes euroasiáticos y africanos de *Inula*, y que el nombre *Pentanema* tiene prioridad frente a *Varthemia* (también recuperado en el clado D), se transfieren las especies de *Inula* recuperados en el clado D, así como *V. persica* al género *Pentanema*. Finalmente se proporciona una nueva descripción para *Pentanema* y 24 nuevas combinaciones en *Pentanema*.

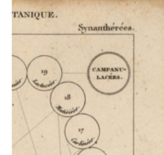


Pentanema indicum aparece en el *Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade, además presenta un número básico de cromosomas diferente ($x = 9$) al resto de especies incluidas en *Pentanema* en su nueva circunscripción. Por esta razón se recupera el género *Vicoa* Cass. para esta especie [*Vicoa india* (L.) DC.].

El género *Inula* en su nueva circunscripción corresponde con *Inula s.s.* sensu Anderberg (1991b) y estaría compuesto por *I. helenium* –especie tipo del género–, *I. magnifica*, *I. racemosa* o *I. royleana*. El género estaría caracterizado por ser hierbas altas con canales resiníferos en el tallo y capítulos radiados.

Además de *I. helenium*, en el clado A encontramos cuatro especies de *Inula*, pero que sin embargo se encuentran en subclados diferentes al de esta especie. Por esto se recuperan los géneros *Codonocephalum* Fenzl [que incluye *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl. y *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch.] y *Monactinocephalus* Klatt para *Monactinocephalus paniculatus* Klatt y *Monactinocephalus shirensis* (Oliv.) D.Gut.Larr, M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. y *Vicoa lignea* (Mesfin) D.Gut.Larr. *et al.*

En el análisis del dataset 2 se ha detectado cierto nivel de incongruencia entre las topologías obtenidas mediante datos provenientes del ADN plastidial y nuclear. Las relaciones filogenéticas entre los clados A y B, particularmente entre las muestras correspondientes a especies de *Carpesium* y *Chrysophthalmum* no se resuelven para ninguna de las topologías. Los bajos niveles de resolución obtenidos mediante el análisis del ADN plastidial pueden explicar incongruencias relativas a la posición en la que se recuperan las muestras de *Telekia speciosa*, *Codonocephalum grande*, *Pentanema aschersonianum*, *P. britannicum* o *P. helenioides* en las topologías correspondientes al ADN rn y el ADN cp. Considerando el papel que han podido tener diferentes eventos de poliploidización en la evolución de las especies recuperadas en el subclado D2, y teniendo en cuenta que se han registrado poblaciones con varios niveles de ploidia (Santos-Vicente *et al.*, 2013), podemos afirmar que los patrones de reticulación detectados en este clado pueden explicarse por eventos de hibridación e introgresión. Dado que diferentes eventos de poliploidización pueden haber jugado un papel importante en el desarrollo del grupo, es necesario plantear futuros estudios mediante nuevas aproximaciones para considerar estas cuestiones.



III. Ahondado en el conocimiento taxonómico de las especies representantes del *Pentanema conyzae* clade en el Mediterráneo occidental mediante análisis de huella genética

El género *Pentanema* en su delimitación actual (Gutiérrez-Larruscain *et al.*, en prensa) está representado por ca. 40 especies distribuidas en Asia, África y Europa, de las cuales doce habitan en el Mediterráneo occidental. Los análisis presentados en Gutiérrez-Larruscain *et al.* (en prensa) recuperan dos linajes principales para el género *Pentanema*: el clado D1 o “*Pentanema salicinum* clade” y el clado D2 o “*Pentanema conyzae* clade”. El primero es un grupo de especies bien definido por otros autores en trabajos anteriores (Beck, 1882; Anderberg, 1991b), que engloba a una serie de especies [*i.e.*, *P. ensifolium* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., *P. germanicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. helveticum* (Weber) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. hirtum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. salicinum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.* y *P. spiraeifolium* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*] caracterizadas por tener hojas más o menos coriáceas, flores liguladas que sobrepasan ampliamente las brácteas, aquenio glabro y nivel de ploidía $2n = 2x = 16$. El linaje D2 o “*Pentanema conyzae* clade” está formado por cuatro sublinajes muy heterogéneos en cuanto a la morfología y el nivel de ploidía de las especies que lo componen. El foco de este estudio está dirigido hacia las siete especies de este último clado –“*Pentanema conyzae* clade”– que crecen en el Mediterráneo occidental: *P. bifrons* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. conyzae* (Griess.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.* y *P. montanum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*

Pentanema britannicum y *P. helenioides* son dos especies que muestran un gran rango de variabilidad morfológica. Este hecho que ha complicado su identificación, particularmente en el área de distribución que comparten. Dado que la distribución de *P. britannicum* en la Península Ibérica tiene un marcado carácter finícola, con escasas poblaciones que se corresponden con el límite occidental de su distribución, y que estas son difíciles de diferenciar de *P. helenioides*, algunos errores de identificación han ocasionado que algunos autores hayan excluido la presencia de *P. britannicum* en la Península Ibérica (Uribe-Echebarria, 2008; Santos-Vicente, 2013).

Pentanema langeanum es una planta endémica del C y N de la Península Ibérica cuyo estatus taxonómico ha sido controvertido debido a su similitud morfológica con *P. conyzae*. Fue descrita como un híbrido [*I. vulgaris* (Lam.) Trevis (= *P. conyzae*) × taxón ibérico desconocido] por Beck (1882) y posteriormente considerada por multitud de autores como especie de origen híbrido bajo diferentes combinaciones {Pau, 1904, *I* × *gutierrezii* Pau [*I. conyzae* × *lutescens* Pau]; Pau 1907, *I.* × *sennenii* Pau [*I. montana* ×



vulgaris (= *P. conzyae*) Pau}); o bien como taxón subordinado a *I. conzyae* [Losa & Montserrat, 1953, *I. conzyae* subsp. *sennenii* Pau; Galán Cela, 1989, *I. conzyae* subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela]. Sin embargo, algunos autores recientes han mantenido el tratamiento a nivel específico bajo diferentes combinaciones (Aseginolaza *et al.*, 1984, *I. sennenii* Pau; Romero & Rico, 1989, *I. langeana*).

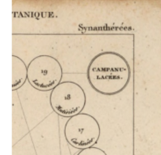
Pentanema maletii es una especie endémica del Atlas Medio con escasa representación en los herbarios; junto con *P. montanum*, son las únicas especies del género *Pentanema* que alcanzan el norte de África.

La falta de información sobre la variabilidad genética interpoblacional de estas especies, unido a los problemas taxonómicos anteriormente citados demandan la necesidad de realizar un estudio más detallado. Para ello, considerando los bajos niveles de variación encontrados dentro del grupo en análisis filogenéticos anteriores que utilizaron secuencias de ADN plastidial y ribosomal (Gutiérrez-Larruscain *et al.*, en prensa), se ha realizado un análisis de huella genética tipo AFLP (*Amplified fragment length polymorphism*)

Los objetivos del presente estudio son los siguientes: (1) comprobar la monofilia de las especies de *Pentanema* distribuidas en el Península Ibérica y NW de África, y explorar la estructura y variabilidad genética interpoblacional utilizando un marcador de huella genética basado en ADN total; (2) llevar a cabo una revisión de material de herbario a fin de explorar aquellos caracteres que mejor permitan discriminar entre las especies objeto de estudio; (3) sobre la base de los resultados obtenidos, tratar de resolver los problemas taxonómicos anteriormente citados y de elaborar claves de determinación que permitan diferenciar entre las especies implicadas que más comúnmente se han confundido entre sí.

Se llevó a cabo una revisión de material de herbario y se genotiparon 223 individuos pertenecientes a 41 poblaciones de las especies objeto de estudio. Se seleccionó como grupo externo dos poblaciones correspondientes a dos especies (*P. helveticum* y *P. salicinum*) recuperadas en el "*Pentanema salicinum* clade" (Gutiérrez-Larruscain *et al.*, en prensa). Se escogieron los siguientes cebadores para la amplificación selectiva: *EcoRI*-ACT(6-FAM)/*MseI*-CAG, *EcoRI*-AGG(VIC)/*MseI*-CAC y *EcoRI*-ACC(NED)/*MseI*-CAT; fluorocromos entre paréntesis].

Se llevó a cabo un análisis de ordenación PCoA basado en una matriz construida mediante la distancia de *Dice* (Dice, 1945; Lowe *et al.*, 2004) para una primera visualización de la estructura de los datos. Se realizó un análisis *NeighborNet* (NNet) mediante la distancia de Jaccard. Se analizó la estructura genética poblacional mediante el método de agrupamiento genético STRUCTURE 2.3.4. Se exploraron valores para el valor *K*



(número óptimo de grupos genéticos) entre 1 y 11. El valor óptimo de K se estimó usando el parámetro *ad hoc* (ΔK statistic) propuesto por Evanno *et al.* (2005).

Tanto el análisis de ordenación PCoA, como la NNet presentan una estructuración bien definida, con asignación de cada una de las muestras al grupo correspondiente a su especie y coincidiendo, por tanto, con la determinación inicial del material. La red muestra alta reticulación para los ejemplares de *P. langeanum*, los cuales se posicionan en nodos entre *P. montanum* y *P. conyzae*. Dos poblaciones de *P. helenioides* (MO6147, MO6146) se agrupan en una posición intermedia entre el grupo de muestras correspondiente a *P. helenioides* y el de *P. britannicum*. Finalmente dos poblaciones Ibéricas (ER8303, MO6143) de *P. britannicum* se emplazan junto a las muestras europeas de la misma especie.

Las especies consideradas en el análisis se recuperan como monofiléticas según los datos de AFLPs tratados con métodos fenéticos de reconstrucción, lo cual está en correspondencia con lo hallado por Gutiérrez-Larruscain *et al.*, (en prensa), sobre la base de reconstrucciones filogenéticas basadas en datos de secuencia de ADN.

Se confirma por primera vez la presencia de *P. britannicum* en la Península Ibérica mediante datos moleculares. Además se han detectado dos poblaciones (MO6147, MO6146) en las que su estructura genética parece indicar un posible contacto reciente entre *P. britannicum* y *P. helenioides*. No obstante, es necesario disponer de otro tipo de datos (*v.gr.*, estudios cariológicos, estudios de cruzamiento) para comprender la biología de estas formas intermedias y poder interpretarlas correctamente.

En el caso *P. langeanum*, sobre la base de nuestros resultados consideramos un posible evento –o varios, dado que los diferentes niveles de ploidía registrados (Santos-Vicente *et al.*, 2013), pueden indicar un origen politópico de estas plantas– de hibridación por aloploidización entre taxones precursores de *P. montanum* y *P. conyzae* como origen de *P. langeanum*. También proponemos un evento de hibridación ancestral entre *P. montanum* y *P. bifrons*, o –más probablemente– entre algunos de sus ancestros, como origen de la especie hipotéticamente aloploide *P. maletii*.

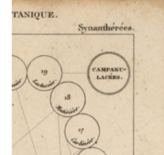
Se aportan claves de identificación para algunas de las especies incluidas en este trabajo.



IV. Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 2015, 179: 742–754.

El género *Filago* L. (Asteraceae) está ampliamente representado en el Hemisferio Norte, donde se encuentran las zonas con mayor riqueza de especies (*i.e.*, Península Ibérica, Norte de Marruecos, Norte de Argelia cuenca del mar Egeo, Oriente Medio y Egipto) las cuales son consideradas putativas áreas de diversificación del género. *Filago* ha sido recientemente delimitado sobre la base de datos provenientes del análisis de secuencias del ADN nuclear y plastidial (Galbany-Casals *et al.*, 2010), caracteres morfológicos (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011; 2015) y evidencias relativas al tamaño del genoma (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b). Es monofilético en su delimitación actual e independiente de los géneros *Logfia* Cass. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2013a) y *Bombycilaena* (DC.) Smoljan. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez, Martínez-Ortega & Rico, 2014). De acuerdo a su nueva circunscripción *Filago* está formado por *ca.* 40 especies, aunque la delimitación de las mismas no es sencilla. Esto se debe a la falta de caracteres diagnósticos y a que muchos de los que han sido considerados relevantes para la taxonomía del grupo probablemente están afectados por fenómenos de homoplasia (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Además, el aspecto general de los individuos pertenecientes a una misma población es muy variable, dado que su morfología se ve afectada por las condiciones climatológicas de cada año (observación personal), lo que complica la detección de caracteres morfológicos con potencial valor taxonómico.

Se considera de manera tradicional –después de los minuciosos estudios realizados por Wagenitz (1968)– que los individuos de *Filago* distribuidos en las zonas semidesérticas del SE Ibérico, Islas Canarias, N de África y SO de Asia con pelos en el margen de las paleas internas se encuentran dentro de la variabilidad morfológica de la especie *Filago desertorum* Pomel. Wagenitz (1968) comentó en sus estudios la gran variabilidad morfológica que presentan los individuos asignados a *F. desertorum*, e indica que las plantas identificadas bajo este taxón podrían tratarse en realidad de un complejo de especies. No obstante, Wagenitz no encontró ningún carácter morfológico durante el transcurso de su revisión taxonómica, ni ningún patrón geográfico o ecológico, que le permitiera describir algún taxón nuevo entre la variabilidad de las plantas asignadas a *F. desertorum*. Durante el transcurso de la revisión taxonómica del género *Filago* para *Flora iberica* [Castroviejo (Coord. Gen.), 1986-2013] se han encontrado varios caracteres morfológicos diferenciales, entre los individuos asignado a *F. desertorum* Pomel distribuidos en la Península Ibérica y el NO de Marruecos. Para este trabajo se ha realizado



una intensa revisión de material de herbario con el objetivo de confirmar los caracteres diferenciales con valor taxonómico encontrados para este grupo de estudio.

Además, trabajos previos han demostrado que es necesario el uso de datos moleculares para realizar estudios taxonómicos en el género *Filago*, ya que muchos caracteres morfológicos están afectados por la homoplasia. Teniendo en cuenta esta premisa, hemos escogido un método de análisis que parte de la fragmentación total del ADN, *i.e.*, *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) con el objetivo de explorar las afinidades filogenéticas de dos especies muy cercanas (*F. mareotica* Delile, *F. desertorum*) incluidas en el "*Filago desertorum* clade" (Galbany-Casals *et al.*, 2010), y establecer los límites taxonómicos entre ambas. Nuestros objetivos en este trabajo son (1) comprobar si la especie tradicionalmente nombrada *F. desertorum* es monofilética; y (2) evaluar la entidad taxonómica de las plantas pertenecientes al género *Filago* del NO de Marruecos y SE de España con pelos en el margen de las paleas internas.

Se llevó a cabo una revisión de material asignado a *F. desertorum* (a partir de aquí, *F. desertorum* *s.l.*) proveniente de varios herbarios. Para el análisis AFLP se seleccionaron tres combinaciones de cebadores para los AFLP (fluorocromos entre paréntesis): EcoRI-AGA(6-FAM)/MseI-CC, EcoRI-ACT(6-FAM)/MseI-CTC and EcoRI-AGG(VIC)/MseI-CTC. El ADN se estrajo de material desecado en gel de sílice de un total de 71 individuos, los cuales corresponden a 19 poblaciones recolectadas en el N de África, Península Ibérica e Islas Canarias e identificadas como *F. desertorum* *s.l.* (17 poblaciones) y *F. mareotica* (2 poblaciones). Como grupo externo para el análisis Neighbor-Joining (NJ) se seleccionó una población de *F. lutescens* Jord. La selección del grupo externo se hizo sobre la base de los resultados de Galbany-Casals *et al.* (2010).

Se realizó un análisis NJ para una primera visualización de la estructura de los datos mediante la distancia de Nei-Li (Nei & Li, 1979). Se llevó a cabo un análisis de ordenación PCoA basado en una matriz construida mediante la distancia de *Dice* (Dice, 1945; Lowe, *et al.*, 2004). Se analizó la estructura genética poblacional mediante el método de agrupamiento genético STRUCTURE 2.3.4. Se exploraron valores para el valor *K* (número óptimo de grupos genéticos) mediante 5 carreras para cada valor de *K* entre 2 y 19. El valor óptimo de *K* se estimó usando el parámetro *ad hoc* (ΔK statistic) propuesto por Evanno *et al.* (2005),

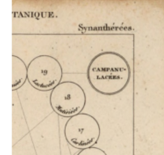
El análisis morfológico del material de herbario mostró que es sencillo diferenciar entre *F. mareotica* y *F. desertorum*; mientras que *F. mareotica* tiene capítulos solitarios, normalmente dispuestos en monocasios; *F. desertorum* *s.l.* presenta glómérulos de



capítulos, dispuestos como un dicasio o pleocasio. Entre las muestras de *F. desertorum s.l.* se identificaron dos morfotipos en la revisión de herbario. El primero de ellos, denominado a partir de ahora *F. desertorum s.s.*, tiene paleas externas vilosas-tomentosas, capítulos y glomérulos viloso-tomentosos (debido a que la cara abaxial de las paleas externas es vilosa-tomentosa), y capítulos ovados con cinco ángulos débilmente marcados. Este morfotipo está distribuido en el SE de Asia (de Oriente Medio a India), N de Africa (de Egipto a Marruecos, pero restringido al sur del Atlas) e Islas Canarias. Por otro lado, los individuos asignados al “morfotipo *castroviejo*” se caracterizan por poseer paleas externas de glabras a subglabras, capítulos y glomérulos de glabros a subglabros (debido a la que la cara abaxial de las paleas externas es glabra, o con algunos pelos aislados cerca del margen), y capítulos piramidales con cinco ángulos fuertemente marcados. Estas plantas crecen en la Península Ibérica y en el NE de Marruecos (restringidos al norte del Atlas).

Tanto el análisis NJ como el PCoA muestran que la variabilidad genética de los especímenes analizados se estructuran en cuatro grupos correspondientes con dos de las especies estudiadas (*i.e.*, *F. mareotica*, *F. lutescens*), y con los dos morfotipos anteriormente asignados a la variabilidad de *F. desertorum*. El análisis bayesiano de la estructura poblacional determina un valor máximo $\Delta K = 975.842032$ para un óptimo de grupos genéticos de $K=3$. Uno de estos grupos se corresponde con las muestras asignadas a *F. mareotica*, mientras que los otros dos grupos genéticos restantes coinciden con los dos morfotipos detectados para *F. desertorum s.l.*: “*F. desertorum s.s.*” y “morfotipo *castroviejo*”.

Filago desertorum ha sido considerado de manera tradicional una especie de distribución amplia con una buena delimitación morfológica (Wagenitz, 1968). Tanto los resultados del análisis AFLP presentados en este trabajo, como el alto nivel de variabilidad intraespecífica detectado para dos muestras de *F. desertorum* en Galbany-Casals *et al.* (2010), coinciden en que *F. desertorum s.l.* no es una entidad monofilética. Los datos genéticos soportan el reconocimiento de al menos dos taxones independientes dentro de la variabilidad de los individuos de *Filago desertorum s.l.* caracterizados por tener pelos en el margen de las brácteas internas. Un análisis morfológico superficial puede revelar que ambas entidades taxonómicas son muy similares, pero tras la minuciosa revisión de material vegetal existen una serie de caracteres morfológicos que permiten la diferenciación de los dos grupos genéticos detectados por los marcadores moleculares. Estos morfotipos están distribuidos alopátricamente, mientras que “*F. desertorum s.s.*” tiene una clara distribución Saharo-Sindica, Irano-Turaniana y Macaronésica; el “morfotipo *castroviejo*” está restringido al SE de la Península Ibérica y al NE de Marruecos al norte del Atlas. Sobre la base de estas evidencias, consideramos que el “morfotipo



castroviejoii” debe ser reconocido al nivel taxonómico de especie como *Filago castroviejoii* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E Rico & M.M.Mart.Ort.

***FILAGO CASTROVIEJOI* ANDRÉS-SÁNCHEZ, D.GUT.LARR., E.RICO & M.M.MART.ORT. SP. NOV.**

Diagnosis: A propiore specie, F. desertorum, differt propter externis receptacularibus paleis glabris ad subglabris in abaxialis faciei tergo exhibere et pyramidalia capitula cum quinque angulis fortiter notatis.

También es necesario considerar que *F. desertorum* s.s. presenta un gran nivel de polimorfismo genético entre las muestras incluidas en nuestro estudio. Esto se puede deber a que tiene un área de distribución muy extensa (Wagenitz 1968, 1969) y que quizá, las muestras seleccionadas para el estudio constituyen una representación sesgada (Tunisia, Algeria and the Canary Islands) del rango geográfico de la especie, a que en su historia evolutiva han existido episodios de reticulación ancestral (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b), o a que existe la posibilidad de que se puedan descubrir nuevos taxones entre la variabilidad de *F. desertorum* s.s. Es necesario plantear nuevos análisis con un mayor muestreo para obtener una explicación satisfactoria de estas cuestiones.



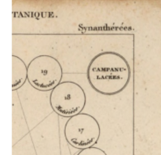
V. *Filago longilanata* and *F. prolifera* (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the *Filago desertorum* clade rediscovered. *Plant Biosyst.*, under review.

Algunas especies pertenecientes a *Filago* han sido obviadas en ocasiones debido a problemas con su identificación, causados principalmente por la carencia de claros caracteres diagnósticos, su pequeño tamaño, y el corto ciclo de vida característicos de estas plantas. Un ejemplo de esta situación es el caso de dos especies endémicas del NO de África: *F. longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter y *F. prolifera* Pomel.

Filago longilanata se distribuye en las regiones semidesérticas de Marruecos. Fue descrita por Maire y Wilczek en 1934 como *Evax longilanata* Maire & Wilczek. Maire y Wilczek (Maire, 1934) reconocieron esta especie sobre la base del indumento lanoso de la planta, el vilano nulo, y la disposición helicoidal de las paleas. Después de estos autores esta especie ha sido mencionada en pocas bases de datos de flora y floras nacionales o regionales (Emberger and Maire 1941; Fennane and Ibn Tattou 1998; Greuter 2006+, 2008; El Oualidi et al. 2012; Ibn Tattou 2014; African Plant Database 2017, continuously updated), pero siempre basadas en el material tipo conservado en el herbario MPU. Sin embargo, *Filago longilanata* no ha sido incluida en la mayoría de los tratamientos taxonómicos propuestos para el género *Filago* (v.gr., Chrtek and Holub, 1963; Wagenitz, 1969; Andrés-Sánchez et al., 2011). Solamente Anderberg (1991a) consideró esta especie en su revisión de la tribu Gnaphalieae, y fue el primero en sugerir su transferencia de *Evax* Gaertn. a *Filago*.

Filago prolifera fue descrito en 1874 por Pomel a partir de material de Algeria (Oued Mehaïguene y Metlili, provincia de Ghardaï). Para ello se basó en la forma y la disposición de las paleas, el número de flores del capítulo, y la forma de crecimiento. De acuerdo con Greuter (2006+, 2008) *F. prolifera* se distribuye en Túnez, Algeria y Marruecos. Aunque a diferencia de *F. longilanata*, muchos autores han incluido *F. prolifera* en catálogos florísticos, floras locales y/o regionales y revisiones taxonómicas, la mayoría del material disponible de esta especie está depositado en MA, MPU, P y WU y fue recolectado entre 1874 y 1933.

Las similitudes morfológicas entre *F. longilanata* y *F. crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub (v.gr., 15-20 paleas dispuestas helicoidalmente, vilano nulo), así como el similar área de distribución de ambos taxones, apoyan la hipótesis de que *F. longilanata* puede ser un miembro de *F.* subgen. *Crocidion* (Galbany-Casals et al., 2010). Por otra parte, *F. prolifera* tiene características morfológicas compartidas con *F. pyramidata* L. (v.gr., paleas dispuestas en filas, preferencias ecológicas similares), especie perteneciente a *Filago* L. subgen. *Filago* (Galbany-Casals et al., 2010). No obstante, las afinidades filogenéticas de ambas especies aún no han sido comprobadas. El objetivo de este trabajo es explorar las



afinidades filogenéticas de las especies *F. longilanata* y *F. prolifera* dentro del género *Filago*. También se presentan descripciones completas de ambas especies, junto con un tratamiento nomenclatural, las primeras iconografías para ambos taxones así como una revisión corológica (se añaden nuevas localidades a las anteriormente conocidas), y una clave de identificación que incluye las especies más próximas.

Sé seleccionaron cinco muestras de *F. longilanata* y cinco de *F. prolifera* (provenientes de dos y tres poblaciones respectivamente), recolectadas en Marruecos en Abril de 2015. Se incluyó de manera adicional dos muestras de *F. desertorum* y una de *F. pyramidata* recolectadas en simpatria con los especímenes estudiados de *F. longilanata* y *F. prolifera*, con el objetivo de comprobar la independencia genética de dichas muestras. Se amplificaron y posteriormente se secuenciaron las regiones espaciadoras ETS e ITS del ADN ribosómico nuclear en las muestras seleccionadas. El muestreo se completó con secuencias disponibles (especies correspondientes al FLAG *clade*) obtenidas de Galbany-Casals *et al.* (2010) y Andrés-Sánchez *et al.* (2015). Se realizaron análisis filogenéticos de las secuencias seleccionadas mediante máxima parsimonia (MP) e inferencia bayesiana (BA).

El análisis de las regiones ETS e ITS recuperan los mismos clados que los obtenidos por autores anteriores (Galbany-Casals *et al.*, 2010). Las muestras secuenciadas *de novo* se posicionaron en dos clados diferentes dentro de *F.* subgen. *Filago*. Los ejemplares correspondientes a *F. longilanata*, *F. prolifera* y *F. desertorum* se recuperan en el "*Filago desertorum clade*". Las muestra de *F. pyramidata* se sitúan en otro clado (Clade I en Galbany-Casals *et al.*, 2010), en una politomía junto a *F. pyramidata*, *F. micropodioides* Lange, *F. duriaei* Coss. ex Lange, *F. congesta* Guss ex DC., *F. fuscescens* Pomel y *F. inexpectata* Wagenitz, con *F. ramosissima* Lange como grupo hermano. Se aprecia un cierto grado de variabilidad intraespecífica entre las muestras de *F. longilanta* y *F. prolifera* dentro del "*Filago desertorum clade*", dentro del cual se recupera una politomía de cuatro grupos: el primer grupo incluye casi todas las muestras de *F. longilanata*; el segundo está formado por las muestras de *F. prolifera* (excepto *F. prolifera* 5) y *F. longilanata* 5; el tercero incluye *F. desertorum*, *F. mareotica* y *F. prolifera* 5; el último grupo se corresponde con *F. castroviejoi*.

Tras realizar una revisión de ca. 3500 especímenes de *Filago* depositados en 26 herbarios, tan solo se ha encontrado un pliego de *F. longilanata*, a parte del ejemplar tipo incluido en MPU. Este ejemplar está depositado en BM y había sido incorrectamente identificado como *Bombycilaena discolor* (Pers.) M.Laínz: MOROCCO: Souss-Massa-Drâa (Agadir); Ourzazate to Ksar-es-Souk, 20 km along track to Bou Skour from Skoura,

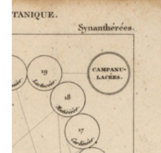


30.999975°, -6.499994°, 1350 m., 18-VI-1974, 823 Reading University/B.M. Expedition (BM).

La inclusión de las especies *F. longilanta* y *F. prolifera* dentro del “*Filago desertorum clade*” incrementa la heterogeneidad morfológica del grupo. Sus miembros tan solo se caracterizan por estar distribuidos en ambientes xerofíticos (halofíticos en el caso de *F. mareotia*), y solo tienen un carácter morfológico en común: aquenios cubiertos por pelos cortos clavados formados por dos células (*short clavate twin hairs*). No obstante, este carácter se trata de una simplesiomorfía, ya que el carácter está compartido con otras especies del género.

Es sencillo identificar *F. longilanata* del resto de especies del “*Filago desertorum clade*” sobre la base de caracteres morfológicos. *Filago longilanata* tiene de 15-20 paleas receptaculares dispuestas helioidalmente y el vilano nulo, mientras que el resto de especies del clado tienen de 15-20 a 25-30 paleas receptaculares dispuestas en filas y tienen vilano. La disposición helicoidal de las paleas receptaculares es una sinapomorfía del género *Evax*. Todas las especies incluidas en ese género se consideran actualmente en *Filago*. En el caso de *F. prolifera*, su diferenciación dentro del clado se basa en el número de paleas receptaculares; mientras que *F. prolifera* tiene 4 paleas receptaculares por fila (20 paleas), las especies consideradas dentro del “*Filago desertorum clade*” tienen las paleas dispuestas en 5-6 filas verticales (25-30 paleas). Además, *F. prolifera* tiene un tipo de crecimiento muy característico: desde un glómulo acaule crecen muchas ramas laterales decumbentes, a forma de pleocasio, las cuales sostienen un glómulo en su ápice (excepcionalmente 2); mientras que el resto de especies del clado tienen un desarrollo del tallo diferente, como un dicasio, monocasio o pleocasio. Finalmente, *F. prolifera* tiene las hojas estrechadas en la base, a modo de peciolo, mientras que en *F. castroviejoii*, *F. desertorum* y *F. mareotica* son sésiles.

Filago longilanata y *F. prolifera* comparten parte del área de distribución con el resto de especies incluidas en el “*Filago desertorum clade*”. Mientras que *F. longilanata* (Marruecos) y *F. prolifera* (Marruecos, Algeria y Túnez) son los únicos taxones endémicos del NO de África, el resto de especies muestra una distribución más amplia que incluye otras regiones y países: *F. castroviejoii* SE de España y NO de Marruecos; *F. mareotica* SE de España, Chipre, Algeria, Túnez, Libia y Egipto; y *F. desertorum* todo el N de África desde las Islas Canarias a Egipto, SE de Asia y SE de España.



VI. SSR Markers for *Filago* subgen. *Filago* (Gnaphalieae: Asteraceae) and cross-amplification in three other subgenera. *Appl. Plant. Sci.*, under review.

El género *Filago* L. (Asteraceae: Gnaphalieae) incluye ca. 45 especies agrupadas en cuatro subgéneros (Galbany-Casals et al., 2010; Andrés-Sánchez et al., 2011). Las especies que lo integran se caracterizan por ser plantas anuales de ciclo corto, con preferencia por zonas secas y alteradas, aunque algunas especies tienen requerimientos ecológicos más restringidos como los de las especies que medran en salinas o en cubetas de alta montaña. Muchas de estas plantas son consideradas malas hierbas de cultivo (Carretero, 2004; Randall, 2007) y otras se encuentran incluidas en listas nacionales y/o regionales de especies amenazadas (Barreno et al., 1985; Moreno, 2008), debido a su área de distribución (Andrés-Sánchez et al., 2013a). Ocho de las especies actualmente consideradas dentro de *Filago*, han estado incluidas tradicionalmente en el género *Evax* Gaertn. Estas ocho especies constituyen un grupo monofilético (en adelante *Evax group*) que actualmente se encuentra incluido dentro de *F.* subgen. *Filago* (Andrés-Sánchez et al., 2015). Las relaciones filogenéticas entre los integrantes de este clado no están resueltas, debido a la baja resolución a este nivel de estudio que tienen los marcadores moleculares basados en secuencias del ADN ribosómico nuclear y ADN plastidial (Galbany-Casals et al., 2010).

El número de cromosomas más frecuente en el género *Filago* es de $2n = 28$ y, excepcionalmente $2n = 26$ (Watanabe, 2012). El tamaño del genoma para estas especies es sorprendentemente pequeño (Andrés-Sánchez et al., 2013b). Según varios autores (Labani & Elkington, 1987; Albach & Greilhuber, 2004) los valores bajos de tamaño del genoma están relacionados con ciclos de vida cortos y con la autogamia. Las especies incluidas en *Filago* han sido consideradas tradicionalmente autogamas estrictas o geitonogamas (Wagenitz, 1965). No obstante, en el caso del *Evax group*, los granos de polen probablemente van desde las flores internas –hermafroditas aunque funcionalmente masculinas– hacia las flores externas, que son femeninas, descartándose la autogamia estricta.

Hemos elegido para desarrollar los microsatélites un pequeño clado dentro del *Evax group*, el cual incluye las siguientes especies: *F. carpetana* (Lange) Chrtek & Holub, *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva y *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany. Estas especies tienen un área de distribución disjunta, la cual está restringida a la Península Ibérica y al NO de África. Dado que la autogamia *s.l.* ha sido frecuentemente relacionada con eventos de dispersión y colonización a larga distancia (Obbard et al., 2006), estas especies pueden constituir un grupo de estudio interesante para desarrollar trabajo de biogeografía en el Mediterráneo occidental con plantas anuales (*v.gr.*, dispersión a larga distancia y



autogamia; efectos de la ausencia de mecanismos de dispersión; etc). Además, el desarrollo de un marcador codominante para el grupo permitiría obtener datos detallados acerca del flujo genético y del impacto de la autogamia.

También es necesario obtener marcadores hipervariables para el grupo, ya que trabajos anteriores han demostrado la falta de resolución de los marcadores convencionales basados en la secuenciación de regiones del ADN nuclear y plastidial (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Asegurar la transferibilidad de estos marcadores ayudaría a desarrollar futuros estudios acerca de las relaciones filogenéticas existentes dentro del grupo.

Se seleccionó material desecado de 11 recolecciones de *F. carpetana* y *F. gaditana* y, se extrajo el ADN total para la preparación de la librería de microsatélites. La librería fue preparada por Genoscreen (Lille, Francia) usando un secuenciador 454-GS-FLX (Roche Diagnostics, Meylan, France) (Malausá *et al.*, 2011). Se fragmentó el ADN total obtenido y se enriqueció con los siguientes motivos: TG, TC, AAC, AAG, AGG, ACG, ACAT y ACTC. Se obtuvieron un total de 25692 secuencias. Se analizaron las secuencias obtenidas con el programa QDD2 (Megléczy *et al.*, 2014), de las cuales se cribaron 3160 secuencias con motivos de tipo microsatélite. Se seleccionaron 30 cebadores a los cuales el programa había otorgado bajos niveles de penalización entre los 63 catalogados como “A design” (Megléczy *et al.*, 2014). Se encargó la síntesis de los cebadores seleccionados (Eurofins, Ebersberg, Germany) y se comprobó la variabilidad de los *loci* para los que amplificaban en dos muestras de *F. lusitanica*, dos de *F. carpetana* y dos de *F. lusitanica*. Se examinaron las secuencias obtenidas para asegurar la homología de las mismas y su correcta amplificación. Se seleccionaron dieciséis pares de cebadores y se usaron para amplificar tres poblaciones de 30 individuos de *F. carpetana*, *F. gaditana* y *F. lusitanica*. Se añadió al cebador *forward* la secuencia universal M13(-21) 5'-TGTAACGACGGCCAGT-3' (Schuelke, 2000) y se marcaron las secuencias amplificadas con los fluorocromos 5-FAM, VIC, NED or PET. Se analizó el producto de PCR por secuenciación capilar en un modelo ABI 3730 Capillary Sequencer (Life Technologies) y se usó como estándar GeneScan 500 LIZ size (Life Technologies). Se analizaron los electroferogramas con el programa GenMarker AFLP/Genotyping versión 1.8. (SoftGenetics, State College, Pennsylvania, USA). Se descartaron seis cebadores debido a que amplificaban loci monomórficos para todas las especies. Se amplificaron y enviaron a secuenciar las muestras con tamaños no esperados, para comprobar la presencia de indels o mutaciones.

Se usaron tres poblaciones correspondientes a tres especies de *Filago* (*F. carpetana*, *F. gaditana* and *F. lusitanica*) para obtener parámetros de genética de poblaciones. El número de alelos obtenidos varió de uno a tres, dos a seis y dos a siete en las poblaciones



de *F. lusitanica*, *F. gaditana* y *F. carpetana* respectivamente. Solo se detectaron alelos monomorficos en la población de *F. lusitanica* para los *loci* mf5, mf8, mf9, mf10, mf19 y mf28. Se detectó una desviación en el HWE ($P < 0.01$) en todas las poblaciones analizadas y para todos los *loci* excepto en el caso de *F. carpetana* y *F. gaditana* para el *locus* mf25. Después del ajuste de Bonferroni se realizó una comparación por pares y los resultados arrojaron que existía desequilibrio de ligamiento con un valor significativo en todos los casos, excepto para aquellos en los que estaban implicados mf5 y mf9.

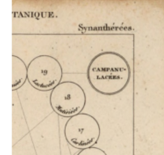
Se comprobó la transferibilidad de los marcadores desarrollados en otras 8 especies del género (tres muestras por especie) representativas de los restantes tres subgéneros que comprenden *Filago sensu* Galbany-Casals *et al.* (2010). Se aseguró la transferibilidad de los nuevos marcadores excepto para mf10. El desarrollo de protocolos de PCR más específicos puede mejorar estos resultados.

Se presenta por primera vez una serie de cebadores de regiones microsatélite polimórficas para el género *Filago*. Estos nuevos marcadores ayudarán en futuros estudio en el género tras la optimización de los protocolos de PCR. Esta nueva herramienta contribuye al desarrollo de futuros estudios filogenéticos, filogeográficos y de genética de poblaciones, los cuales pueden contribuir con información valiosa para ampliar el conocimiento en el género *Filago* y para promover la conservación de las especies que lo integran.



VII. Conclusiones

1. Se confirma la monofilia del *Inula complex* dentro del grupo natural Inuleae-Inulinae, así como el estatus parafilético de los géneros *Chrysophthalmum* Schp. Bip., *Inula* L. y *Pentanema* Cass. en su circunscripción tradicional, mediante un análisis filogenético basado en secuencias de ADN nuclear y plastidial.
2. Según los datos obtenidos, el género *Inula* se recupera en dos linajes independientes. El primer linaje está formado por *Inula helenium* L. -la especie tipo del género- que se agrupa en un clado junto con *Telekia speciosa* Baumg. y otros representantes asiáticos y africanos de *Inula*. El segundo linaje está formado por el resto de especies de *Inula* euroasiáticas, que son recuperadas junto con *Pentanema divaricatum* Cass. -la especie tipo del género *Pentanema*- en una posición más cercana al resto de géneros del *Inula complex* (i.e., *Chrysophthalmum*, *Carpesium* L., *Rantheriopsis* Rauschert).
3. Sobre la base de los resultados de los análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN y de los datos morfológicos obtenidos, se propone una nueva circunscripción para los géneros *Inula* y *Pentanema*, con el fin de obtener una clasificación basada en géneros monofiléticos.
4. Como consecuencia de la nueva delimitación de *Inula* y *Pentanema* y para preservar la monofilia de los géneros que componen el *Inula complex*, se proponen 22 nuevas combinaciones en *Pentanema*, una en *Monactinocephalus* Klatt y una en *Vicoa* Cass. Además, se recuperan los nombres *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch., *Monactinocephalus paniculatus* Klatt y *Vicoa indica* (L.) DC.
5. Se ha llevado a cabo un análisis de variabilidad y estructuración genética que incluye varias poblaciones de las especies de *Pentanema* incluidas en el "*Pentanema conyzae clade*", distribuidas en el Mediterráneo Occidental, utilizando un marcador hipervariable de huella genética tipo AFLP. Los datos obtenidos y tratados con métodos fenéticos y de análisis bayesiano de estructuración genética recuperan siete grupos que se corresponden con las siete especies bien establecidas tradicionalmente.
6. El análisis de fragmentos AFLP indican que en la formación de las especies de *Pentanema* distribuidas en el Mediterráneo Occidental han intervenido procesos de evolución reticulada. Así, los resultados sugieren que en el origen de las especies *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort y *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.* podrían estar implicados eventos de hibridación, de modo que ambas especies pueden ser consideradas aloploplóides.
7. Se confirma la presencia de *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.* en la Península Ibérica y se aporta un nuevo paso de clave útil para distinguir *P. britannicum* de *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. *et al.*, dos especies que han sido frecuentemente confundidas entre sí. Además, tanto los datos morfológicos, como los derivados del análisis de AFLPs, sugieren el posible origen híbrido entre ambas especies de

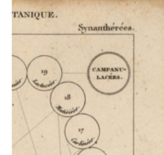


algunos ejemplares recolectados en una localidad de la Península Ibérica, lo que demuestra por primera vez la posibilidad de hibridación entre estas especies y puede explicar, al menos en parte, las citadas confusiones.

8. Se ha realizado una revisión morfológica de los integrantes del "*Filago desertorum* clade" que ha permitido diferenciar dos morfotipos dentro de la variabilidad de *F. desertorum* Pomel s.l., ambos con pelos en el margen de las paleas receptaculares internas. El primero –*F. desertorum* s.s.– tiene las paleas receptaculares externas vilosas-tomentosas, el capítulo ovado con cinco ángulos poco marcados, y se distribuye desde las Islas Canarias hasta Oriente próximo, exceptuando el norte del Atlas. El segundo –morfotipo *castroviejo*– muestra las paleas receptaculares externas de glabras a subglabras, el capítulo piramidal con cinco ángulos fuertemente marcados, y se distribuye en el SE de la Península Ibérica y el NO de Marruecos.
9. A fin de complementar el trabajo anterior, se ha efectuado un estudio de estructuración de la variabilidad genética basado en marcadores AFLP en el "*Filago desertorum* clade". Ello ha permitido reconocer tres entidades diferenciadas. Una de ellas se corresponde con muestras identificadas como *F. mareotica* Delile, otra con individuos correspondientes al morfotipo *F. desertorum* s.s. y la tercera con el morfotipo *castroviejo*.
10. Se concluye, sobre la base de los datos morfológicos y moleculares, que el morfotipo *castroviejo* debe ser reconocido como una entidad taxonómica independiente de *F. desertorum*. De acuerdo con ello se ha descrito la nueva especie *Filago castroviejo* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. **sp. nov.**
11. Se aporta un tratamiento taxonómico para *F. castroviejo*, *F. desertorum* y *F. mareotica*, que incluye una clave de identificación y una revisión nomenclatural completa, en el que, además, se tipifican cuatro nombres (*F. spathulata* var. *alexandrina*, *F. spathulata* f. *evaciformis*, *Gifolaria floribunda* y *F. mareotica* var. *murcica*).
12. Se ha explorado la posición filogenética dentro del género *Filago* de dos especies distribuidas en el Norte de África, poco conocidas, y no incluidas en análisis moleculares anteriores, *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter y *Filago prolifera* Pomel, mediante el análisis de secuencias del ADN ribosómico nuclear y plastidial. Según los resultados obtenidos, ambas especies se encuadran en el "*Filago desertorum* clade".
13. Se aportan descripciones completas para *F. longilanata* y *F. prolifera*, junto con un tratamiento nomenclatural, las primeras iconografías de dichas especies y mapas de distribución de nueva elaboración, que incluyen localidades en las que crecen estas plantas que previamente no eran conocidas.
14. Se han descrito y optimizado nuevos marcadores moleculares con suficiente resolución como para poder desentrañar en el futuro las relaciones filogenéticas existentes entre los grupos que componen *Filago* L. subgen. *Filago*. Se han desarrollado diez pares de cebadores correspondientes a regiones de tipo



microsatélite para el género *Filago* en las especies *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva, *F. carpetana* (Lange) Chrtek & Holub y *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany, y se ha comprobado su transferibilidad en 24 muestras correspondientes a 8 especies representativas de los otros tres subgéneros de *Filago*

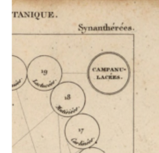


BIBLIOGRADÍA CITADA

- AFRICAN PLANT DATABASE** (version 4.3.9). Conservatoire et Jardin Botanique de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria. "Retrieved [August 2017]", from <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/>.
- ALBACH, D.C. & GREILHUBER, J.** 2004. Genome size variation and evolution in *Veronica*. *Ann. Bot.* 94: 897—911.
- ANDERBERG, A.A.** 1989. Phylogeny and reclassification of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Can. J. Bot.* 67: 2277—2296.
- ANDERBERG, A.A.** 1991a. Taxonomy and phylogeny of the tribe Gnaphalieae (Asteraceae). *Opera Bot.* 104: 5—195.
- ANDERBERG, A.A.** 1991b. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 176: 75—123.
- ANDERBERG, A.A., ELDENÁS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M.** 2005. Evolutionary relationships in the tribe Inuleae (incl. Plucheeae) evidenced by DNA sequences of *ndhF*; with notes on the systematic position of some aberrant genera. *Org. Divers. Evol.* 5: 135—146.
- ANDERBERG, A.A.** 2009. Inuleae. Pp. 667—680 in: FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYES, R.J. (eds.). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed: Typification of several names. *Taxon* 60(2): 572—576.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2013a. Taxonomic revision of the genus *Logfia* (Asteraceae, Gnaphalieae) in the Mediterranean region. *An. Jard. Bot. Madr.* 70: 7—18.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., TEMSH, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2013b. Genome size in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Phylogenetic, evolutionary and ecological implications. *Plant. Syst. Evol.* 299: 331—345.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2014. Revision taxonómica del género *Bombycilaena* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Candollea* 69: 55—63.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, M., BERGMEIER, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Further evidence of morphological homoplasy. *Plant. Syst. Evol.* 301: 1653—1668.
- ASEGINOLAZA, C., GÓMEZ, D., LIZAU, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRÍA, M.R. & URIBE-ECHEBARRÍA, P.M.** 1984. *Catálogo florístico de Alava, Vizcaya y Guipúzcoa*. Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, España.
- BARRENO, E., BRAMWELL, D., CABEZUDO, B., CARDONA, M. A., COSTA, M., FERNÁNDEZ CASAS, J., FERNÁNDEZ-GALIANO, E., FERNÁNDEZ PRIETO, J. A., GÓMEZ CAMPO, C., HERNÁNDEZ BERMEJO, E., HEYWOOD, V. H., IZCO, J., LLORENS, L., MOLERO MESA, J., MONTSERRAT, P., RIVAS MARTÍNEZ, S., SÁENZ LAÍN, C., SANTOS GUERRA, A., VALDÉS, B. & WILDPRET, W.** 1985. *Listado de las plantas endémicas, raras o amenazadas de España*. Información Ambiental MOPU 3: 48—71.
- BECK, G.** 1882. *Die europäischen Inula-Arten*. Der Kaiserlichen-Königlichen Hof- und Staatsdruckerei. Vienna. Austria.
- BENTHAM, G.** 1873. Tribus IV. Inuloideæ. Pp. 180—318 in: BENTHAM, G & HOOKER, J.D. (eds.) *Genera Plantarum*, vol. II. Lovell Reeve & Co., Londini, Britannia.



- CARRETERO, J.L. 2004. *Flora arvensis española. Las malas hierbas de los cultivos españoles*. Phytoma-España S.L. Valencia. España
- CASSINI, H. 1822. XII.^e Tribu. Les Inulées (Inuleæ). Pp. 560—582 in: Cuvier, F. (ed.) *Dictionnaire des Sciences Naturelles*, vol. XXIII. Le Normant, Paris, France.
- CASTROVIEJO, S. ET AL. (COORDS. GENS.). 1986—. *Flora iberica*. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, Spain.
- CHRTEK, J. & HOLUB, J. 1963 Poznámky k taxonomii rodu *Evax* Gaertn. a *Filago* L. *Preslia* 35: 1—17.
- DICE, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26(3): 297—302.
- DUMAN, H. & ANDERBERG, A.A. 1999. An undescribed species of *Pentanema* Cass. (Asteraceae-Inuleae) from Turkey, with notes on the phylogenetic status of the genus. *Bot. J. Linn. Soc.* 129: 333—338.
- ELDENÄS, P., ANDERBERG, A.A. & KÄLLERSJÖ, M. 1998. Molecular phylogenetics of the tribe *Inuleae* s. str. (Asteraceae), based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 210: 159—173.
- ELDENÄS, P., KÄLLERSJÖ, M. & ANDERBERG, A.A. 1999. Phylogenetic placement and circumscription of tribes Inuleae s. str. and Plucheeae (Asteraceae): Evidence from sequences of chloroplast gene *ndhF*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13: 50—58.
- ENGLUND, M., PORNPONGRUNGUENG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inulinae (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics*. 25: 319—352.
- EMBERGER, L. & MAIRE, R. 1941. *Catalogue des plantes du Maroc. Volume IV*. Minerva. Alger. Argélie.
- EL OUALIDI, J., KHAMAR, H., FENNANE, M., IBN TATTOU, M., CHAUVET, S. & TALEB, M.S. 2012. *Checklist des endémiques et spécimens types de la flore vasculaire de l'Afrique du Nord*. Document de L'Institut Scientifique N°25, Université Mohammed V, Agdal. Rabat. Maroc
- EVANNO, G., REGNAUT, S. & GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611—2620.
- FENNANE, M. & IBN TATTOU, M. 1998. Catalogue des plantes vasculaires rares, menacées et endémiques du Maroc. *Bocconea* 8: 35—36.
- FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYER, R.J. 2009. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- GALÁN & CELA, P. 1989. Tipificación de dos nombres de Pau y una nueva combinación en el género *Inula*. *Fontqueria* 27: 9—10.
- GALBANY-CASALS, M., ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GARCÍA-JACAS, N., SUSANNA, A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the “*Filago* group” (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671—1689.
- GREUTER, W. 2003. The Euro+Med treatment of Gnaphalieae and Inuleae (Compositae) – generic concepts and required new names. *Willdenowia* 33: 239—244.
- GREUTER, W. 2006+. *Filago* in: GREUTER, W. & RAAB-STRAUBE, E. (eds.) *Compositae. Euro+Med Plantdatabase* – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. Available: <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Filago&PRefFk=7000000>. Accessed 11-08-2016.
- GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN, D., SANTOS-VICENTE, M., ANDERBERG, A.A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2017. Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*. *Taxon*, in press.



- HITCHCOCK, A.S. & GREEN, M.L.** 1929. *Standard-species of Linnean genera of Phanerogamae (1753-54)*. Pp. 111—202 in: RAMSBOTTOM, J., WILMOTT, A.J., SPRAGUE, T.A. & WAKEFIELD, E.M. (eds.) *Nomenclatural proposals by British Botanists*. His Majesty's Stationery Office, London, United Kingdom.
- IBN TATTOU, M.** 2014. *Filago*. Pp. 178—186 in: FENNANE, M., IBN TATTOU, M. & EL OUALIDI, J. (eds.) *Flore Pratique du Maroc, Manuel de détermination des plantes vasculaires, vol 3. Dicotyledones (p.p.), Monocotyledones*. Institut Scientifique Université Mohammed V, Agdal. Rabat. Maroc.
- KIM, K.J. & JANSEN, R.K.** 1995. *ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92: 10379-10383.
- LABANI, R.M. & ELKINGTON, T.T.** 1987. Nuclear DNA variation in the genus *Allium* L. (Liliaceae). *Heredity* 59: 119—128
- LESSING, C.F.** 1832. *Synopsis Generum Compositarum*. Duncker & Jumbolt, Berolini, Borussia.
- LOSA, T.M. & MONTERRAT, P.** 1953. Nueva aportación al estudio de la flora de los montes cántabro-leoneses. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 11(2): 385—462.
- LOWE, A., HARRIS, S. & ASHTON, P.** 2004. *Ecological genetics: Design, Analysis and Application*. Blackwell Science, United States.
- NEI, M. & LI, W.H.** 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 186: 5269—5273.
- MALAUSA, T., GILLES, A., MEGLÉCZ, E., BLANQUART, H., DUTHOY, S., COSTEDOAT, C., DUBUT, V., PENCH, N., CASTAGNONE-SERENO, P., DÉLYE, C., FEAU, N., FREY, P., GAUTHIER, P., GUILLEMAUD, T., HAZARD, L., LE CORRE, V., LUNG-ESCHARMANT, B., MAÉ, P. J., FERREIRA, S. & MARTIN, J.F.** 2011. High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Mol. Ecol. Resour.* 11 : 638—644.
- MEGLÉCZ, E., PECH, N., GILLES, A., DUBUT, V., HINGAMP, P., TRILLES, A., GRENIER, R. & MARTIN, J.F.** 2014. QDD version 3.1: A user friendly computer program for microsatellite selection and primer design revisited: experimental validation of variables determining genotyping success rate. *Mol. Ecol. Resour.* 14(6): 1302—1313.
- MERXMÜLLER, H., LEINS, P. & ROESSLER, H.** 1977. Inuleae-systematic review. Pp 577—602 in: HEYWOOD, V.H., HARBORNE, J.B. & TURNER, B.L. (eds.) *The biology and chemistry of the Compositae*, vol I. Academic Press, London, United Kingdom.
- MORENO, J. C. (COORD.)** 2008. *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas), Madrid. España.
- NYLINDER, S. & ANDERBERG, A.A.** 2015. Phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Plucheinae. *Taxon.* 64 (1): 110—130.
- OBBARD, D. J., HARRIS, S.A. & PANNELL, J.R.** 2006. Sexual systems and populations genetic structure in an annual plant: testing the metapopulation model. *Amer. Naturalist.* 167: 354—366.
- PAU, C.** 1904. Nuevas formas españolas de plantas. *Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat.* 3: 291.
- PAU, C.** 1907. Formas nuevas de plantas. *Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat.* 4: 25.
- PORNONGRUNGUENG, P., BORCHSENIUS, F., ENGLUND, M., ANDERBERG, A.A. & GUSTAFSSON, M.H.G.** 2007. Phylogenetic relationships in *Blumea* (Asteraceae: Inuleae) as evidenced by molecular and morphological data. *Plant Syst. Evol.* 269(3-4): 223—43.
- RANDALL, R.P.** 2007. *Global compendium of weeds*. <http://www.hear.org/gcw/>
- ROMERO, T. & RICO, E.** 1989. Flora de la cuenca del río Duratón. *Ruizia.* 8: 1—438.



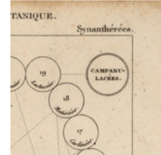
- SANTOS-VICENTE, M.** 2013. *Estudio Biosistemático del género Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. PhD dissertation, University of Salamanca, Salamanca, Spain.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2013. *I. helenioides* DC., *I. langeana* Beck, *I. maletii* Maire, *I. montana* L., *I. oculus-christi* L. & *I. salicina* L. (Asteraceae). In: MARHOLD, K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 16. *Taxon* 62(6): 1360, E15-E16.
- SCHUELKE, M.** 2000. An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. *Nat. Biotechnol.* 18: 233—234.
- URIBE ECHEBARRÍA, P.M.** 2008. *Inula helenioides* DC. in: GOMEZ, D. *et al.* (eds.), Atlas de la Flora de Aragón. Departamento de Medio Ambiente del Gobierno de Aragón (DGA) y Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). <http://floragon.ipe.csic.es/index.php>
- WAGENITZ, G.** 1968. *Filago desertorum* Pomel un *F. Hurdwarica* (DC.) Wagenitz, zwei verkannte Arten der “*Filago germanica*“-Gruppe aus Nordafrika, Vorder- und Zentral-asien. *Willdenowia* 4: 283—298.
- WAGENITZ, G.** 1969. Abgrenzung und Gliederung der Gattung *Filago* L. *s.l.* (Compositae-Inuleae). *Willdenowia* 5: 395—444.
- WATANABE, K.** 2012. *Index to Chromosome numbers in Asteraceae*. http://www.lib.kobeu.ac.jp/infolib/meta_pub/G0000003asteraceae_e.

TANIQUE.

Synanthérées.



SUMMARY



I. Introduction

One of the research areas developed in the GIR (“*Grupo de Investigación Reconocido*”) BIOCONS (Biodiversity, Systematics and Conservation of vascular plants and fungi) which is settled in the Department of Botany and Plant Physiology of the University of Salamanca consists in the study of the plant diversity through the participation in the Spanish national project *Flora iberica*. This doctoral thesis was promoted by the obtained results of other two former theses done under the framework of the *Flora iberica* project, whose studies were performing on the genera *Inula* L. and *Filago* L.

The genus *Inula* in its traditional delimitation (Anderberg, 2009) includes ca. 100 species distributed around the Old World and some naturalised species in America. The type species of *Inula* is *I. helenium* L. (Hitchcock & Green, 1929). The species belonging to *Inula* are mainly perennial herbs or exceptionally bushes. They are characterized by radiate capitula with colourful yellow ray flowers, imbricate receptacular bracts, absence of receptacular scales, and pappus of barbellate capillary bristles. Currently, is broadly accepted that *Inula* is paraphyletic in its traditional circumscription (Anderberg, 1991b; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009) on the basis of morphological, kariological and molecular features.

Filago, the other genus studied in the thesis, is composed of ca. 45 species (Galbany-Casals *et al.*, 2010) distributed in Europe, Asia and North Africa, and some introduced species in other areas around the World. The type species of *Filago* is *F. pyramidata* L. (Hitchcock & Green, 1929). The plants included in *Filago* are tiny annual herbs. The capitula are arranged in more or less dense subglobose or pulvinate clusters, which are surrounded by involucrant bracts. Receptacular paleae are arranged helicoidally or in vertical rows and subtend a female floret or more or less enclose them and all of them surround a group of hermaphrodite florets (sometimes functionally male) at the centre of the inflorescence. The general aspect of the individuals, even within one population, varies greatly and it is linked with environmental factors which has further complicated the identification of morphological traits with potential taxonomic values.

Currently, the genus *Inula* is placed in the tribe Inuleae Cass, while *Filago* belongs to Gnaphalieae (Cass.) Lecoq & Juill. However, both species were considered related by many authors and classified into the same tribe (Inuleae *sensu* Cassini, 1822; Bentham, 1873; Merxmüller *et al.*, 1977. Astereae *sensu* Lessing, 1832). Anderberg (1989) performed one cladistics analyses of the whole Inuleae tribe *sensu* Merxmüller *et al.* (1977), and on the basis of his results he splits it in three tribes: Inuleae, Gnaphalieae and Plucheae. Anderberg’s classification was supported by further molecular analysis (Kim & Jensen, 1995; Eldenäs *et al.*, 1999) and constitutes the current classification of the group followed



by Funk *et al.* (2009) in the most comprehensive treatment done until this day for the family Compositae.

One taxonomic problem regarding to the genus *Inula* is its delimitation. Several studies (Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*, 2009; Nylinder & Anderberg, 2015) done with molecular markers (mainly spacer sequences from the nuclear ribosomic DNA or from the plastid DNA) testify the paraphyletic status of *Inula*. In these works, *I. helenium* is always recovered in a close phylogenetic position to other genera (*e.g.*, *Carpesium* L., *Telekia* Baumg.) of the *Inula* complex (*i.e.*, *Amblyocarpum* Fisch. & C.A.Mey., *Carpesium*, *Chrysophthalmum* Sch. Bip., *Inula*, *Pentanema* Cass., *Rhanteriopsis* Rauschert, *Telekia* y *Varthemia* DC) than to the rest of species belonging to *Inula* [*v.gr.*, *I. conyzae* (Griess.) Meikle, *I. montana* L., *I. bifrons* L., *I. oculus-christi* L., among others].

Other taxonomic problem is related to the wide variability of some vegetative traits in some species of *Inula*, which have cause the description of many invalid species, hybrids or forms. One example is the group of species described by Carlos Pau Español, nowadays under the synonymy of *I. helenioides* DC. (*e.g.*, *I. asteriscus* Pau, *I. casaviellae* Pau, *I. hispanica* Pau, *I. stenophylla* Sennen & Pau, *I. turolensis* Pau). In other cases, the taxonomic status of some plants were no clearly defined due to the morphological similarities with other wider distributed plants. This situation was represented by the species *I. langeana* Beck, which is an endemic plant of the CN of the Iberian Peninsula and was described as a hybrid [*v.gr.*, *I. x senenii* Pau (= *I. montana* x *I. vulgaris*); *I. x gutierrezii* Pau (= *I. conyzae* x *I. lutescens*)] or subordinate to the subspecific rank [*i.e.*, *I. conyzae* subsp. *sennenii* Pau; *I. conyzae* subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela] due its similarity with the species *I. conyzae*. Currently, some authors accept the specific status of the taxon (*i.e.*, Aseginolaza *et al.*, 1984, *I. sennenii* Pau; Romero & Rico, 1989, *I. langeana*; Santos-Vicente, 2013).

There is not any taxonomic treatment for the *Inula* complex that reflects properly the evolutionary relationships of the genera comprising it. Also, there is not any study that confirms the identity of some Iberian taxa of *Inula*, their origin, or the phylogenetic relationships among them.

The delimitation of the genus *Filago* and related genera have changed several times along history, mainly due to the morphological similarities of the plants belonging this group (*Filago* group *sensu* Anderberg, 1991a). Galbany-Casals *et al.* (2010) did the first molecular phylogeny for the *Filago* group and proposed a new taxonomic treatment for *Filago* which was developed in Andrés-Sánchez *et al.* (2011). In this treatment, they recognized four different subgenera within *Filago*: *F.* subgen. *Crocidion* Andrés-Sánchez & Galbany, *F.* subgen. *Filago*, *F.* subgen. *Oglifa* (Cass.) Gren. and *F.* subgen. *Pseudevax* (DC.) Andrés-Sánchez & Galbany. This treatment is supported by data from the genome size



(Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b) and from the cypselae morphology (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Although the last mentioned papers enhance the knowledge of the genus *Filago*, is mandatory to increase the sampling effort in future analyses, due to the fact that the morphological plasticity of the plants included in the group obscure its delimitation (Wagenitz, 1969; Galbany-Casals *et al.*, 2010). The high level of intraspecific molecular variability found in former cases (Galbany-Casals *et al.*, 2010) also is a call to increase sample size in future analyses. The low resolution of the molecular markers used in former studies, do not allow inferring phylogenetic relationships among different clades (Galbany-Casals *et al.*, 2010) that compound *F.* subgen. *Filago*, so is mandatory to optimize a new molecular marker which will shows more levels of resolution at this level of study.

The main aims of the present study are:

1. Test the monophyletic status of the *Inula complex* (*sensu* Englund *et al.*, 2009) through a molecular phylogeny which includes a higher number of species and a higher number of samples per species than the former published studies, check the phylogenetic relationships among these species, and evaluate their monophyletic status.
2. Propose the nomenclatural combinations required according with a natural delimitation of the genera included in the *Inula complex* and, explore the morphological variability of them in order to find out diagnostic traits whose support those taxonomic decisions.
3. Perform one study of the population variability in the species belonging to *Inula* belonging to the “*Inula conzyae* clade” spread in the western Mediterranean. Check the monophyletic status of these species, explore evolutionary processes within the group, and propose identification keys for the morphologically most complicated species of the group.
4. Delve deeper into the study of the phylogenetic relationships of the representative species of the “*Filago desertorum* clade” using an AFLP fingerprint analysis. Check the monophyly of the species *F. desertorum* Pomel and *F. mareotica* Delile in the western Mediterranean area.
5. Determine the phylogenetic position of other species of *Filago* distributed in North Africa, not included in former studies and, provide a nomenclatural treatment and complete description for these species.
6. Develop SSR (Single Sequence Repeat) molecular markers with enough variability to resolve the phylogenetic relationship among the different clades recognized in *F.* subgen. *Filago sensu* Galbany-Casals *et al.* (2010).

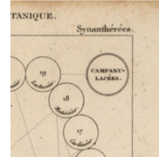


II. Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*. *Taxon*, in press.

The tribe Inuleae is composed of two major lineages: the Inulinae and the Plucheinae. Species included within Inulinae have a large oxalate crystal in each cell of the cypselae epidermis, which is a synapomorphic trait for Inuleae-Inulinae (Eldenäs *et al.*, 1999; Anderberg *et al.*, 2005). The circumscription of most genera included in Inuleae-Inulinae is problematic (Englund *et al.*, 2009) and many of them –including *Inula*– are paraphyletic (also Nylinder & Anderberg, 2015).

In this study, we present a phylogeny of the species included in the *Inula* complex (Englund *et al.*, 2009) with particular emphasis on the European species of *Inula*. For this purpose, we sequenced the internal transcribed spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA (nrDNA) and three regions of the maternally inherited plastid DNA (*trnQ-rps16*, *trnL-rpl32* and *rpl32-ndhF*). With the aim to shed light on the circumscription of these genera, phylogenetic analyses were performed with 324 DNA sequences (ITS region from nrDNA and three plastid spacers from cpDNA) of which 294 are new. The evolutionary relationships were examined using two datasets. With dataset 1, our aim was to elucidate the placement of the European species of *Inula* within the *Inula* complex. The sampling included 99 accessions from 59 taxa, covering ca. 25% of the species currently accepted under *Inula* [*i.e.*, all European and North African species, plus *I. orientalis* Lam., *I. auriculata* Wall., *I. grandis* Schrenk, *I. peacockiana* (Aitch. & Hemsl.) Korovin and *I. mariae* Bordz. from Asia, and *I. confertiflora* A. Rich., *I. shirensis* Oliv. and *I. paniculata* (Klatt) Burt Davy as African representatives], as well as most species of the related genera from the complex [*i.e.*, *Carpesium* was represented by eight species (25 species in the genus); *Chrysophthalmum* by three species (five species in the genus); *Rhanteriopsis* by two species (four species in the genus), plus *Telekia* and *Varthemia*, which are monospecific genera], except for *Amblyocarpum inuloides* Fisch. & C.A. Mey., a monospecific genus from the Caspian Sea area. A few species were included as representatives of the *Pulicaria* complex and the *Caesulia-Blumea* clade. Finally, *Stenachaenium campestre* Baker which belongs to Inuleae-Plucheinae was used as outgroup taxon to root the tree.

In the case of dataset 2, we analyzed the ITS region plus three plastid DNA regions, our aim was to compare possibly incongruent gene tree topologies obtained from plastid and nuclear DNA markers. We analysed 73 accessions of 34 species of the *Inula* complex included in dataset 1. *Pulicaria dysenterica* from the *Pulicaria* complex and *Pentanema indicum*, which earlier had been found to belong in the *Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade (Englund *et al.*, 2009), was used as outgroup.



For dataset 1, Bayesian (BA), Maximum Likelihood (ML) and Maximum Parsimony (MP) analyses were carried out. In the case of dataset 2, the three plastid makers were concatenated and only BA was performed. Since topological incongruences between the nrDNA and cpDNA trees were detected, analyses using a plastid and nuclear concatenated matrix were not performed. The morphology of the cypselae has been traditionally considered as a first order character in the taxonomy of the Asteraceae. Thus, detailed micrographs of the cypselae corresponding to selected species recovered in the *Inula* complex were performed. One individual of *I. helenium*, *I. montana*, *I. salicina*, *Pentanema divaricatum* and *Varthemia persica* DC. was selected, given that these species are representative of the main clades recovered in our analysis.

The Bayesian, ML and MP analyses of dataset 1 resulted in highly congruent topologies. Subtribe Inulinae, the *Pulicaria*, and the *Inula* complex are recovered as monophyletic groups, at least in the BA, which is in congruence with former studies (Eldenäs *et al.*, 1998; Anderberg *et al.*, 2005; Englund *et al.*; 2009). In the *Inula* complex, four different clades can be distinguished. Clade A includes *I. helenium* plus four other species of *Inula* (*i.e.*, *I. grandis*, *I. shirensis*, *I. paniculata* and *I. peacockiana*). *Inula grandis* and *I. peacockiana*, are recovered together in a sister position to *Telekia speciosa*. Clade B includes two species of *Chrysophthalmum*, which are recovered in an unresolved position with respect to six species of *Carpesium*. Clades C and D are well supported as sister groups. Clade C contains two species of *Rhanteriopsis* clearly recovered as monophyletic and five accessions of *Chrysophthalmum montanum* (DC.) Boiss. Finally, clade D contains the European species of *Inula* plus other Asian and African taxa.

Clade D comprises two sister subclades. Subclade D1 contains the diploid species *Inula spiraeifolia* L., *I. ensifolia* L., *I. helvetica* Weber, *I. germanica* L., *I. salicina* L. and *I. hirta* L., a group of species already recognized as closely related to each other by several authors, even based only on morphological characters (Beck, 1882; Anderberg, 1991; Englund *et al.*, 2009). Subclade D2 is composed mainly of polyploid taxa arranged in four groups. The first includes two species of *Pentanema* (*i.e.*, *P. multicaule* and *P. divaricatum*). The second group in this polytomy is one accession of *I. confertiflora*, a species from Ethiopia. The third is a subclade containing specimens of *I. conyzae*, *I. bifrons* and *V. persica* DC., Last, the fourth group is composed by three minor clades: The first one includes *I. orientalis*, plus *I. auriculata*, a species restricted to the Caucasus region; the second one comprises *I. britannica*, *I. helenioides*, *I. oculus-christi* and *I. mariae*, and the last minor clade is composed of *Inula verbascifolia* Hausskn., and *I. aschersoniana* Janka from the Balkan Peninsula plus *I. montana*, *I. langeana* Beck and *I. maletii* Maire endemics from the western Mediterranean area.



In congruence with previous results (Anderberg *et al.*, 2005; Pornpongrungrueng *et al.*, 2007; Englund *et al.*, 2009; Santos-Vicente, 2013; Nylinder & Anderberg, 2015), our analyses demonstrates that the *Inula* complex is monophyletic, and that several genera within it, such as *Chrysophthalmum* (3 species), *Pentanema* and *Inula*, are paraphyletic. *Inula* and *Pentanema* are considered residual taxonomic hodgepodes (after Duman & Anderberg, 1999) within the *Inula* complex.

Several characters allow distinguishing *I. helenium* from the species belonging to clade D. *Inula helenium* has resiniferous canals in the stem, while the species included in clade D lack them. The external bracts of the involucre in *I. helenium* are ovate and bigger than those of *Pentanema*, which are linear to ovate-lanceolate and smaller. The shape and size of the cypselae are also different; in *I. helenium* they are prismatic (tetragonous) and up to 3 – 4 [5] mm long, while in species recovered in clade D the cypselae are terate or slightly compressed, 0.5 – 3 mm long. The number of pappus bristles is higher in *I. helenium* (50 – 80 [65]) than in the species recovered in clade D (<45). *Inula helenium* has a base chromosome number of $x=10$, while this number is $x=8$ in the species of clade D, which represents a clear synapomorphy for the group.

Considering that the type species of *Pentanema* is *P. divaricatum*, that is recovered within clade D together with the remaining Euroasiatic and African species of *Inula*, and that the name *Pentanema* has priority over *Varthemia* (also within clade D), we propose a new delimitations for the genera *Inula* and *Pentanema*. We favor to transfer the species of *Inula* included in clade D as well as *V. persica* to *Pentanema*. Then we provide an amended description of *Pentanema* and 24 new combinations under *Pentanema*.

Given that *P. indicum* is not a member of clade D, but of the *Duhaldea-Caesulia-Blumea* clade and considering also that it has a chromosome base number different from the remaining species included in *Pentanema* as the genus is here circumscribed ($x=9$ instead of $x=8$), we propose the combination *Vicoa indica* (L.) DC. as a name for this species.

We propose also to resurrect the combinations *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch. and *Monactinocephalus paniculatus* Klatt, and the new combinations *Monactinocephalus shirensis* (Oliv.) D.Gut.Larr, M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. and *Vicoa lignea* (Mesfin) D.Gut.Larr. *et al.*

Several cases of incongruence have been found between the nuclear and plastid DNA topologies. The relationships between clades A and B, particularly among the species of *Carpesium* and *Chrysophthalmum*, are not resolved either in the nrDNA or the cpDNA. The low levels of resolution obtained using the cpDNA markers may also explain the different positions of some samples in the cpDNA reconstruction as in the cases of *Telekia speciosa*,



Codonocephalum grande, *Pentanema aschersonianum*, *P. britannicum* or *P. helenioides*. Considering the impact of polyploidy in the evolution of Subclade D2 and the existence of mixed-ploidy populations (e.g., *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr. *et al.*; Santos-Vicente, 2013), the reticulate patterns observed in this clade may be best explained by hybridization and introgression. Polyploidization events may have played an important role in the evolution of this group and future studies with other markers will specifically address these issues.

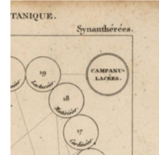


III. Going deeper in the taxonomic knowledge of the representative species from the *Pentanema conyzae* clade distributed in the Western Mediterranean area: AFLP approach.

The genus *Pentanema* in its current delimitation (Gutierrez-Larruscain *et al.*, in press) includes *ca.* 40 species distributed in Asia, Africa and Europe and twelve of them are distributed in the Western Mediterranean area. The results presented in Gutiérrez-Larruscain *et al.* (in press) recover two main lineages within *Pentanema*: the clade D1 or “*Pentanema salicinum* clade” and the clade D2 or “*Pentanema conyzae* clade”. The first one –D1 or “*Pentanema salicinum* clade”– is a well-established group of species [*i.e.*, *P. ensifolium* (L.) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort., *P. germanicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. helveticum* (Weber) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. hirtum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. salicinum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.* and *P. spiraeifolium* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*] already recognized as closely related to each other by several authors (Beck, 1882; Anderberg, 1991b). The species recovered in the “*Pentanema salicinum* clade” are characterized by their long ray flowers, glabrous cypselae, xeromorphic leaves and a ploidy level $2n = 2x = 16$. The second one –D2 or “*Pentanema conyzae* clade”– is composed by four heterogeneous sublineages regarding to the morphology and the ploidy level of the species. The focus of the present study is over the seven species of the “*Pentanema conyzae* clade” which are distributed in the Western Mediterranean area: *P. bifrons* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. conyzae* (Griess.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. *et al.*, *P. langeanum*, *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.* and *P. montanum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.*

Pentanema britannicum and *P. helenioides* are two variable species in terms of morphology, fact that obscures their identification in their sharing distribution area. The populations of *P. britannicum* from the Iberian Peninsula are at its species limit distribution range. At some point, the morphologic similarities between *P. helenioides* and *P. britannicum* together with the scarcity presence of *P. britannicum* in the Iberian Peninsula produced that some authors excluded *P. britannicum* from the Iberian Peninsula (Uribe-Echebarria, 2008; Santos-Vicente, 2013).

On its side, *Pentanema langeanum* is a rare endemic plant growing in the C and N of the Iberian Peninsula which taxonomic status has been under controversy due to its morphologic similarities with *P. conyzae*. *Pentanema langeanum* was described as a “pro hybrid” [*I. vulgaris* (Lam.) Trevis (= *P. conyzae*) × taxón ibérico desconocido] by Beck (1882) and Afterwards it was described by several modern authors as a hybrid, using different names and different combinations of putative parental species [Pau, 1904, *I.* ×



gutierrezii Pau (*I. conyzae* × *I. lutencens* Pau); Pau 1907, *I.* × *sennenii* Pau (*I. montana* × *I. conyzae*)] or as a subspecies subordinated to *I. conyzae* [Losa & Montserrat, 1953, *I. conyzae* subsp. *sennenii* Pau; Galán Cela 1989, *I. conyzae* subsp. *gutierrezii* (Pau) Galán Cela]. Furthermore, some contemporary authors did other proposals related with the specific status of the taxon (Aseginolaza *et al.*, 1984, *I. sennenii* Pau; Romero & Rico, 1989 *I. langeana*).

Pentanema maletii is an endemic plant of the Middle Atlas with scarce representation among the herbaria collections. Together with *P. montanum*, they are the species of *Pentanema* distributed at the N of Africa.

The lack of information about the genetic variability between populations along with the taxonomic problems exposed before, request the need to perform fine-scale detailed studies on the group. For that, and considering the low levels of resolution found in the group in former analyses which used ribosome and plastid DNA sequences (Gutiérrez-Larruscain *et al.*, en prensa), one genetic fingerprinting method (AFLP) was carried out.

The aims of this study are: (1) check the monophyletic status of the species of *Pentanema* included in the “*Pentanema conyzae* clade” and distributed in the Western Mediterranean area and, explore the genetic structure and the genetic variability across and within populations through one whole genome fingerprinting method (AFLP); (2) carry out one revision of herbarium material to explore the morphological variation of the studied species; (3) on the basis of the results, resolve the taxonomic problems pointed out before and provide identification keys for the most complicate morphologically species.

A herbarium revision was carried out and 223 samples belonging to 41 populations of 9 species were genotyped. Two populations from two different species belonging to the “*Pentanema salicinum* clade” (*P. helveticum* and *P. salicinum*) were selected as outgroup. *EcoRI*-ACT(6-FAM)/*MseI*-CAG, *EcoRI*-AGG(VIC)/*MseI*-CAC and *EcoRI*-ACC(NED)/*MseI*-CAT were selected as primers for the selective amplification.

A PCoA analysis was carried out with the *Dice* distance (Dice, 1945; Lowe *et al.*, 2004), to pre-visualize the data. A NeighborNet (NNet) analyses was conducted using the Jaccard distance. The genetic structure of the populations was analysed with the software STRUCTURE 2.3.4. Different values of *K* were explored (between 1 and 11). The best value was selected using the *ad hoc* parameter (ΔK statistic) proposed by Evanno *et al.* (2005).

The PCoA analysis and the NNet recover a well-defined structuration of the samples. Each group correspond with the *prior* determination of the samples. The net shows high



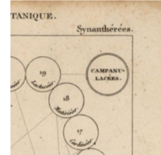
levels of reticulation for the samples of *P. langeanum*, which individuals are placed between *P. montanum* and *P. conyzae*. Two populations of *P. helenioides* (MO6147, MO6146) are grouped together in between the samples of *P. helenioides* and *P. britannicum*. Two Iberian populations (ER8303, MO6143) of *P. britannicum* are recovered with the European samples of the same species.

The species included in the study are recovered as monophyletic, as indicate the AFLP data, in correspondence with the results of Gutiérrez-Larruscain *et al.* (en prensa).

The occurrence of *P. britannicum* in the Iberian Peninsula is confirmed by first time. The genetic structuration of two populations (MO6147, MO6146) indicates a recent contact between *P. britannicum* and *P. helenioides*. However, others king of data are necessary to understand the biology of these mixed populations.

On the basis of the results, the origin of the species *P. langeanum* could have been promoted by hybridization events –or various events, attending to the different ploidy levels of *P. langeanum*– between *P. conyzae* and *P. montanum*. On its side, *P. maletii* could be originated by hybridization events between *P. bifrons* and *P. montanum*, or probably by ancestor species or both taxa. Then *P. langeanum* an *P. maletii* should be considered allopolyploids.

Identification keys for some species are also included in this study.



IV. Overlooked singularity and tiny plants: the *Filago desertorum* clade (Gnaphalieae, Asteraceae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 2015, 179: 742–754.

The genus *Filago* (Asteraceae) is widely represented in the Northern Hemisphere. The Iberian Peninsula, North Morocco and North Algeria on the one hand and the Aegean Region, Middle East and Egypt on the other, are particularly species-rich areas and putative centers of diversity for this plant genus. *Filago* has been recently recircumscribed based on sequence data from nuclear and plastid DNA (Galbany-Casals *et al.*, 2010), morphological characters (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011; 2015) and further evidences such as genome sizes (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b). The genus is monophyletic and is considered independent from *Logfia* Cass. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2013a) and *Bombycilaena* (DC.) Smoljan. (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2014). According to this new classification the genus comprises *ca.* 40 taxa. Delimitating species within *Filago* is not an easy task due to the scarcity of morphological characters that have been considered relevant for the taxonomy of the genus and also to the fact that many of them are probably affected by homoplasy (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Furthermore, the general aspect of the individuals even within one population varies a lot probably in connection with environmental factors (personal observation), which has additionally complicated the identification of morphological traits with potential taxonomic value.

Traditionally –particularly after the detailed studies conducted by Wagenitz (1968)– the individuals of *Filago* from the semidesertic areas of SE Spain, Canary Islands, N Africa and SW Asia that show hairs at the margin of the internal paleae have been included under the variability of the species *Filago desertorum* Pomel. Wagenitz (1968) already commented on the high morphological variation of the plants, which based on the mentioned character could be determined as *F. desertorum* and suggested that this taxon would represent a heterogeneous assembly of true biological species. However, he was not able to find any correlation among morphological traits, geographic areas and/or ecological conditions and therefore avoided describing new species or subspecies within this taxonomic group. At the moment we were preparing a taxonomic revision of the genus *Filago* for *Flora iberica* [Castroviejo (Coord. Gen.), 1986-2013], we found several morphological differences between the individuals previously determined as *F. desertorum* from the Iberian Peninsula and NW Morocco and those from the remaining areas where the plant is present. In this work an accurate revision of herbarium specimens has been carried out in order to search for characters with taxonomic and/or phylogenetic value within the study group.

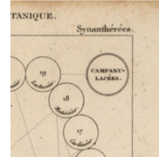


The use of genomic data to provide insight into the systematics and evolution of *Filago* has been proven to be a requirement within a genus where the omnipresence of homoplasy in morphology has obscured taxonomic boundaries between species and has repeatedly led to unnatural classifications (Galbany-Casals *et al.*, 2010). Considering this fact, we have selected an anonymous whole genome fingerprinting method, *i.e.*, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) to try to examine phylogenetic relationships among the closely related species (*F. mareotica* Delile, *F. desertorum*) included in the “*Filago desertorum* clade” (Galbany-Casals *et al.*, 2010) and to properly establish taxonomic limits between them. More specifically, our aims are as follow: (1) to test whether the species traditionally named *F. desertorum* is monophyletic; (2) to assess the taxonomic identity of those *Filago* from north-western Morocco and south-eastern Spain with hairs in the margin of the internal paleae.

An exhaustive review of herbarium material previously identified as *F. desertorum* (hereafter *F. desertorum s.l.*) was conducted. For the AFLPs the three finally selected primer combinations were (fluorescent dye in brackets), EcoRI-AGA(6-FAM)/MseI-CC, EcoRI-ACT(6-FAM)/MseI-CTC and EcoRI-AGG(VIC)/MseI-CTC. Leaf material from a total of 71 individuals from 19 populations from N Africa, the Iberian Peninsula and the Canary Islands identified as *F. desertorum s.l.* (17 populations) and *F. mareotica* (2 populations) was included in the AFLP analyses. Five additional samples from the same population of the species *F. lutescens* Jord. were selected to be used as outgroup in the Neighbor-Joining (NJ) analysis. The selection of this outgroup was based on the results by Galbany-Casals *et al.* (2010).

As a first approach to the global genetic relationships among the analyzed individuals and possible structure of the data, a Neighbor-Joining (NJ) based on a matrix of Nei-Li distances (Nei & Li, 1979) was performed. Additionally, a Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on a matrix of Dice's coefficient (Dice, 1945; Lowe *et al.*, 2004) was performed. Population genetic structure was additionally investigated using a Bayesian clustering method implemented in STRUCTURE v. 2.3.4. The proportion of membership of each individual and population to the *K* clusters was calculated performing 5 runs for each *K* value between 2 and 19. The optimal number of *K* clusters was estimated using the *ad hoc* parameter (ΔK statistic) of Evanno *et al.* (2005),

The identification of *F. mareotica* from *F. desertorum s.l.* is relatively easy based on morphological characters. While *F. mareotica* shows solitary capitula, generally arranged like a monochasium, *F. desertorum s.l.* presents clusters of capitula, usually arranged like a dichasium or pleochasium. Furthermore, the study of herbarium material allowed the identification of two morphotypes within the variation of *F. desertorum s.l.* First, those



samples hereafter named as *F. desertorum* s.s. have villose-tomentose external paleae, capitula and clusters (because the abaxial face of the paleae is villose-tomentose), and ovate capitula with five slightly marked angles. They are present in south-western Asia (from Middle East to India), North Africa (from Egypt to Morocco, but here restricted to the south of the Atlas mountain range) and Canary Islands. In contrast, those individuals assigned to “morphotype *castroviejoii*” are characterised by glabrous to subglabrous external paleae, capitula and clusters (the abaxial face of the external paleae is glabrous or with few hairs near the margin in this case), and pyramidal capitula with five strongly marked angles. These plants grow in the Iberian Peninsula and NE Morocco (north of the Atlas range).

Both the NJ and PCoA analyses showed that the genetic variation of the study group was organized in four groups, which correspond with well-established species (*i.e.*, *F. mareotica*, *F. lutescens*) and with the morphotypes previously described within the variation of *F. desertorum* s.l. The Bayesian analysis of population structure showed a maximum $\Delta K = 975.842032$ value for the optimal value $K=3$. In this analysis, the individuals identified as *F. mareotica* were detected as a single, while those initially determined as *F. desertorum* s.l. were mainly grouped into two different major clusters, which correspond with “*F. desertorum* s.s.” and “morphotype *castroviejoii*”.

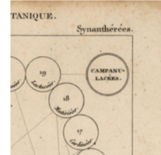
Filago desertorum s.l. has been traditionally considered to be a widely distributed and morphologically variable species (Wagenitz, 1968). Both our AFLP genetic data and the intraspecific levels of sequence variation detected by Galbany *et al.* (2010) between two samples identified as *F. desertorum* s.l., congruently suggest that this species is not monophyletic. These genetic data support the recognition of at least two independent taxa within the variation of those *Filago* that show hairs at the margin of the internal paleae. In a superficial analysis these two taxonomic entities are morphologically very similar, but the exhaustive revision of herbarium specimens and the closer examination of morphological traits have allowed the recognition of two morphotypes each characterized by a set of morphological characters, which are in correspondence with the groups identified using genetic markers. Furthermore, these morphotypes show non-sympatric distribution areas: while “*F. desertorum* s.s.” presents a Saharo-Sindican, Irano-Turanian and Macaronesian distribution, “morphotype *castroviejoii*” is restricted to SE Iberian Peninsula and NE Morocco north of the Atlas range. Based on all these evidences, we consider that “morphotype *castroviejoii*” should be recognized at the specific rank as *Filago castroviejoii* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort.

***FILAGO CASTROVIEJOII* ANDRÉS-SÁNCHEZ, D.GUT.LARR., E.RICO & M.M.MART.ORT. SP. NOV.**



Diagnosis: A propiore specie, F. desertorum, differt propter externis receptacularibus paleis glabris ad subglabris in abaxialis faciei tergo exhibere et pyramidalia capitula cum quinque angulis fortiter notatis.

Last, it should be also considered that *F. desertorum* s.s. shows high levels of genetic polymorphism. This could be because this species has a large distribution area (Wagenitz 1968, 1969) and although the samples selected for this study constitute a rough representation of the distribution area of the species (Tunisia, Algeria and the Canary Islands), they may not represent well its complete geographical range and variation; ancestral hybridization or incomplete lineage sorting of ancestral polymorphism (Galbany-Casals *et al.*, 2010), or could also be related to the fact that *F. desertorum* s.s. is a morphologically variable taxon (Wagenitz, 1968; authors, pers. observ.), and the possibility of identifying hidden unrecognized taxa within it exists. Further studies are needed in order to try to give a satisfactory explanation to all these issues.



V. *Filago longilanata* and *F. prolifera* (Gnaphalieae: Asteraceae): Two neglected species from the *Filago desertorum* clade rediscovered. *Plant Biosyst.*, under review.

Identification problems in some species together with their small size, and their ephemeral life cycle resulted in overlooked species throughout history. One example of this is the case of two endemic species from NW of Africa: *F. longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter and *F. prolifera* Pomel.

Filago longilanata is a species distributed in the semidesertic regions of Morocco. This species was described by Maire and Wilczek in 1934 as *Evax longilanata* Maire & Wilczek based on a single specimen from Tinfift (Mequinez-Tafilalet, Morocco). Maire and Wilczek (Maire, 1934) recognized their new species on the basis of the lanate indument of the plant, the absence of pappus, and the helicoidal arrangement of the paleae. *Filago longilanata* has been mentioned by a few authors in national or regional checklists and Floras (Emberger and Maire 1941; Fennane and Ibn Tattou 1998; Greuter 2006+, 2008; El Oualidi et al. 2012; Ibn Tattou 2014; African Plant Database 2017, continuously updated) but in all cases based on the type kept at the MPU herbarium. However, *Filago longilanata* remained unmentioned in several of the most comprehensive taxonomic treatments proposed for the genus (e.g., Chrtek & Holub, 1963; Wagenitz, 1969; Andrés-Sánchez et al., 2011). Only Anderberg (1991) included *F. longilanata* in his complete revision of the whole tribe Gnaphalieae, and suggested for the first time to transfer the species from *Evax* to *Filago*.

Filago prolifera was described as new species in 1874 by Pomel with material from Algeria (Oued Mehaïguene and Metlili, Ghardaïa province), based on the shape and disposition of the receptacular paleae, the number of flowers of the capitula and the growth pattern. According to Greuter (2006+, 2008) it is distributed in Tunisia, Algeria, and Morocco. Although several former authors had included this species in many floristic reviews, catalogues, and local Floras, all of these are based on a few individuals collected between 1874 and 1933 and lodged at MA, MPU, P, and WU.

The morphological similarities of *F. longilanata* with *F. crocidion* (Pomel) Chrtek & Holub (e.g., 15-20 receptacular paleae arranged helicoidally, pappus absent), along with the similar geographical distribution of both species support the hypothesis that *F. longilanata* could be a member of *F.* subgen. *Crocidion* (Galbany-Casals et al., 2010). On its side, *F. prolifera* shows morphological similarities with *F. pyramidata* (e.g., paleae arranged in rows and habit) that is included in *Filago* L. subgen. *Filago* (Galbany-Casals et al., 2010). However the phylogenetic affinities of these species have never been tested.

The aim of the present work is to examine the phylogenetic affinities of *F. longilanata* and *F. prolifera* into the genus *Filago*. We also aim to provide complete descriptions of

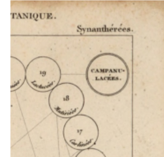


these often neglected species, together with a nomenclatural treatment, high quality illustrations and a chorological update (new localities are reported and added to their historical distribution) for them, as well as an identification key, which includes the closest related species.

Five samples of *F. longilanata* from two populations and five of *F. prolifera* from three populations collected in Morocco in April 2015 were selected. Additionally, two samples of *F. desertorum* and one of *F. pyramidata* collected in localities where *F. longilanata* and *F. prolifera* were growing in sympatry were selected in order to confirm the genetic identity of different species from the same places. Samples were amplified and sequenced for the ribosomic nuclear regions ITS and ETS. Online available sequences completing taxon sampling (species from the FLAG clade) were taken from Galbany-Casals *et al.* (2010) and Andrés-Sánchez *et al.* (2015). Maximum parsimony (MP) and Bayesian inference (BI) analyses were performed.

The ETS+ITS analysis recovers the same clades in the phylogenetic tree as in previous work (Galbany-Casals *et al.*, 2010). All samples newly sequenced for this work are placed within *F.* subgen. *Filago*, but in two different clades. Samples of *F. longilanata*, *F. prolifera* and *F. desertorum* are recovered into the “*F. desertorum* clade”. Moreover, the new sample of *F. pyramidata* is placed in another clade (Clade I in Galbany-Cassals *et al.* 2010), in a polytomy together with the other *F. pyramidata* samples, plus *F. micropodioides* Lange, *F. duriaei* Coss. ex Lange, *F. congesta*. Guss ex DC., *F. fuscescens* Pomel and *F. inexpectata* Wagenitz, and with *F. ramosissima* as a sister group. The samples belonging to *F. longilanata* and *F. prolifera* show intraspecific variability to some extent, and within the *F. desertorum* clade there are four main groups, which describe a polytomy: The first one groups together almost all samples of *F. longilanata*; the second one consists of *F. prolifera* (except *F. prolifera* 5) and the sample *F. longilanata* 5; the third one is composed of *F. desertorum*, *F. mareotica*, and *F. prolifera* 5; finally, a single sample corresponding to *F. castroviejoi* is recovered separated from the remaining species.

After the revision of ca. 3500 specimens of *Filago* lodged in 26 herbaria, in addition to the type material deposited in MPU, a previously neglected population of *F. longilanata* was detected. The herbarium specimens are lodged in BM and were incorrectly identified as *Bombycilaena discolor* (Pers.) M.Laínz: MOROCCO: Souss-Massa-Drâa (Agadir); Ourzazate to Ksar-es-Souk, 20 km along track to Bou Skour from Skoura, 30.999975°, - 6.499994°, 1350 m., 18-VI-1974, 823 Reading University/B.M. Expedition (BM).



The inclusion of *F. longilanata* and *F. prolifera* in the “*Filago desertorum* clade” further increases the heterogeneity of this group, whose members are mostly represented in xerophytic places (halophytic in the case of *F. mareotica*). In fact, the species clustered in the *F. desertorum* clade share only one common feature; achenes covered by short clavate twin hairs. However, this character state is also present in other species of the genus and it could be considered as a plesiomorphic state.

The identification of *F. longilanata* from the other species of the *F. desertorum* clade is relatively easy on the basis of morphological characters. *Filago longilanata* has 15-20 receptacular paleae arranged helicoidally and the pappus absent, while the remaining species of this clade have 15-20 or 25-30 receptacular paleae arranged in five vertical rows with the pappus always present. The helicoidal disposition of the receptacular paleae is a synapomorphy of the genus *Evax*. All the species traditionally included in this genus are currently combined under the name *Filago*. In fact, *F. longilanata* was described under *Evax*, presenting many morphological similarities with *F. crocidion* (e.g., 15-20 receptacular paleae helicoidally arranged, pappus absent), a species that was also described under *Evax*. On its side, *F. prolifera* has 4 receptacular paleae per vertical row (20 paleae), while the species traditionally included in the “*Filago desertorum* clade” have these paleae arranged in 5-6 vertical rows. Moreover, *F. prolifera* presents a characteristic growing type: from a unique acaulescent cluster many decumbent branches grow, subtending a solitary apical cluster (two in rare cases), like a pleochasium, whereas the remaining species of this clade show a developed stem branched in the inflorescence like a dichasium, monochasium or pleochasium. Finally, *F. prolifera* has the leaves tapering like a petiole and they are sessile in *F. castroviejoii*, *F. desertorum* and *F. mareotica*

Filago longilanata and *F. prolifera* share part of their distribution area with the rest of taxa included in the clade. While *F. longilanata* (Morocco) and *F. prolifera* (Morocco, Algeria and Tunisia) are the only two taxa endemic of NW Africa, the remaining species of the “*Filago desertorum* clade” are distributed also in other regions and countries: *Filago castroviejoii* SE of Spain and NW of Morocco; *F. mareotica* SE of Spain, Cyprus, Algeria, Tunisia, Libya and Egypt; and *F. desertorum* the whole N of Africa from Canary Islands to Egypt, SE Asia and SE of Spain.



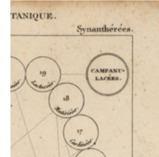
VI. SSR Markers for *Filago* subgen. *Filago* (Gnaphalieae: Asteraceae) and cross-amplification in three other subgenera. *Appl. Plant. Sci.*, under review.

The genus *Filago* L. (Asteraceae: Gnaphalieae) comprises ca. 45 spp. grouped into 4 subgenera (Galbany-Casals *et al.*, 2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2011). It is composed by annual ephemeral plants which grow in open, often disturbed dry habitats, but some species are stenoc and ecologically restricted to interesting particular habitats such as salt marshes or small snow beds at high altitudes. Some of the species are considered weeds (Carretero, 2004; Randall, 2007) and others are listed on either national or regional catalogues of endangered plants (Barreno *et al.*, 1985; Moreno, 2008), due to their narrow distribution areas (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013a). Eight of the species traditionally included within the genus *Evax* Gaertn. represent a monophyletic group (hereafter named the *Evax* group) currently placed in *Filago* L. subgen. *Filago* (Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). Nuclear and plastid DNA sequence analyses provide low resolution and therefore not enough information to really untangle the phylogenetic relationships within the species belonging to the *Evax* group (Galbany-Casals *et al.*, 2010).

The most common chromosome number in the genus is $2n = 28$, exceptionally $2n=26$ (Watanabe, 2012), and the species show striking low genome sizes (Andrés-Sánchez *et al.*, 2013b). It is generally assumed (Labani & Elkington, 1987; Albach & Greilhuber, 2004) that short life cycles and self-breeding systems are correlated with low DNA contents. In fact, traditionally the species included in *Filago* have been considered strict autogamous or geitonogamous (Wagenitz, 1965). But in the case of the *Evax* group, the pollen grains probably go from the inner hermaphrodite florets –functionally masculine– to the surrounding external female florets, thus discarding strict autogamy.

To develop microsatellite markers for *Filago*, we chose a small subclade within the *Evax* group, which includes *F. carpetana* (Lange) Chrtek & Holub, *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva and *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany. These species show interesting disjunct distribution areas and are almost restricted to the Iberian Peninsula and the North-West of Morocco. Considering that autogamy s.l. (*i.e.*, including geitonogamy) has been frequently related with long-distance dispersal and with the colonization of new areas (Obbard *et al.*, 2006), these species represent a nice model to develop biogeographic studies on annual plants in the Western Mediterranean area (*e.g.*, long-distance dispersal events related to autogamy; effects of the absence of evident dispersal mechanisms; etc). The development of codominant markers will allow obtaining data on the prevalence of autogamy in the populations of *Filago*, as well as on gene flow.

Hypervariable genetic markers are also needed to overcome problems related to the scant variability detected in the nuclear and plastid DNA markers (Galbany-Casals *et al.*,



2010; Andrés-Sánchez *et al.*, 2015). The transferability of the loci to other species would allow developing studies aimed to understand the phylogenetic relationships within the genus *Filago*.

Silica gel-dried leaf material from 11 samples of *F. carpetana* and *F. gaditana* were used for the preparation of the microsatellite library. Total DNA was extracted from silica-gel leaf material. The library was prepared by Genoscreen (Lille, France) using 454 GS-FLX (Roche Diagnostics, Meylan, France) high-throughput DNA sequencer (Malausa *et al.*, 2011). The DNA was fragmented and enriched with TG, TC, AAC, AAG, AGG, ACG, ACAT and ACTC motifs. A total of 25692 sequences were obtained. These sequences were analysed with the software QDD2 (Megléczy *et al.*, 2014) revealing 3160 sequence reads with microsatellite motifs. From 63 primers pairs with A design (Megléczy *et al.*, 2014), a total of 30 with low penalty values, different lengths and repeat motifs were selected. These primers were ordered (Eurofins, Ebersberg, Germany) to check the variability of these loci in two samples of *F. lusitanica*, two of *F. carpetana* and two of *F. gaditana*. The obtained sequences were examined to assess homology and correct loci amplification. Sixteen primers were selected and tested in three populations of 30 individual each in *F. carpetana*, *F. gaditana* and *F. lusitanica*. The sequence-specific forward primers were marked using the universal primer M13(-21) 5'-TGTAACGACGGCCAGT-3' (Schuelke, 2000) labelled with 5-FAM, VIC, NED or PET fluorescent dyes. The PCR products were run on an ABI 3730 Capillary Sequencer (Life Technologies) using GeneScan 500 LIZ size Standard (Life Technologies). Electropherograms were analysed with GeneMarker AFLP/Genotyping Software version 1.8 (SoftGenetics, State College, Pennsylvania, USA). Six primers were discarded because they were monomorphic for all the species analysed. In the cases that the expected sizes of the alleles were different than the obtained, the individuals were sequenced in order to identify indel presence.

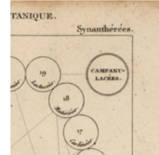
We used three populations of *F. carpetana*, *F. gaditana* and *F. lusitanica* in order to obtain population genetic parameters. The number of alleles ranged from one to three, two to six and two to seven in the populations of *F. lusitanica*, *F. gaditana* and *F. carpetana* respectively. Only monomorphic alleles were detected in the *F. lusitanica* populations for loci mf5, mf8, mf9, mf10, mf19 and mf28. Deviation from HWE ($P < 0.01$) was detected in each population for all loci, except for *F. carpetana* and *F. gaditana* in locus mf25. Linkage disequilibrium was significant after Bonferroni correction for all the pairwise comparisons except for those involving mf5 and mf9.

Cross amplification was tested in 8 additional species (three individuals per species) representing the three other subgenera recovered within *Filago* by Galbany-Casals *et al.*



(2010). Except for mf10, almost all other loci amplified. More specific PCR protocols could improve these results.

A set of polymorphic microsatellite markers for the genus *Filago* is reported here for the first time. These new markers could be useful for the whole genus after PCR protocol improvement. They will allow developing phylogenetic, phylogeographic and population genetic studies, which can contribute valuable information for species conservation, as well as data on reproductive systems.



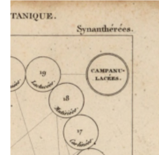
VII. Conclusions

1. The molecular phylogenetic analyses based on nuclear and plastid DNA sequences confirm the monophyletic status of the *Inula complex* within the Inuleae-Inulinae lineage. The genera *Chrysophthalmum* Schp. Bip., *Inula* L. and *Pentanema* Cass. are paraphyletic in their traditional circumscription.
2. According to the obtained data, the genus *Inula* is recovered in two independent lineages. One is composed of *Inula helenium* L. –type species of *Inula*– which is placed in one clade together with *Telekia speciosa* Baumg. and other representatives of *Inula* from Asia and Africa. The second lineage is composed of the remaining euroasiatic species of *Inula*, which are recovered together with *Pentanema divaricatum* Cass. –type species of *Pentanema*– in a closer position to other genera of the *Inula complex* (i.e. *Chrysophthalmum*, *Carpesium* L., *Rantheriopsis* Rauschert).
3. New delimitations of the genera *Inula* and *Pentanema* are proposed on the basis of the obtained molecular and morphological data.
4. As a result of the newly circumscribed genera *Inula* and *Pentanema*, 24 new combinations in *Pentanema* are proposed, one in *Monactinocephalus* Klatt and one in *Vicoa* Cass. along with the resurrection of the names *Codonocephalum peacockianum* Aitch. & Hemsl., *Codonocephalum grande* (Schrenk ex Fisch. & C.A.Mey.) B.Fedtsch., *Monactinocephalus paniculatus* Klatt and *Vicoa indica* (L.) DC.
5. The interspecific genetic variability and structure of the species belonging to the “*Pentanema conyzae* clade” distributed in the Western Mediterranean area is investigated through AFLP fingerprinting. Seven groups are recovered, which are in accordance with seven traditionally well-established species.
6. Reticulate evolutionary patterns seem to be involved in the origin of the species belonging to the “*Pentanema conyzae* clade” distributed in the Western Mediterranean area. The origin of the species *P. langeanum* (Beck) D.Gut.Larr., M.Santos-Vicente, Anderb., E.Rico & M.M.Mart.Ort. and *P. maletii* (Maire) D.Gut.Larr. *et al.* could have been promoted by hybridization events and both species could be considered allopolyploids.
7. The occurrence of the species *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. *et al.* in the Iberian Peninsula is confirmed for the first time. A key to a couple of frequently misidentified species, *P. helenioides* (DC.) D.Gut.Larr. *et al.* and *P. britannicum*, is provided. Hybridization between both species is demonstrated by morphological and genetic data.
8. Two morphotypes within the morphological variability of *F. desertorum* Pomel *s.l.*, –both with hairs at the margin of the internal paleae– are detected. Morphotype *F. desertorum* *s.s.* shows villose-tomentose external paleae and ovate capitula with five slightly marked angles; it grows in south-western Asia, North Africa (to the south of the Atlas mountains) and Canary Islands. On its side, morphotype *castroviejoii* shows glabrous to subglabrous external paleae and pyramidal capitula with five strongly



marked angles, and grows in the Iberian Peninsula and north-eastern Morocco (to the north of the Atlas mountains).

9. Three different entities were recognized within the "*Filago desertorum* clade" using AFLP fingerprinting analysis. The first one corresponds with samples identified as *F. mareotica* Delile, the second one with samples corresponding to morphotype *F. desertorum* s.s., and the third one with samples belonging to morphotype *castroviejoii*.
10. According to the results of the genetic and morphological analyses, morphotype *castroviejoii* should be considered an independent species from *F. desertorum*. This, a new species is described: *Filago castroviejoii* Andrés-Sánchez, D.Gut.Larr., E.Rico & M.M.Mart.Ort. **sp. nov.**
11. A taxonomic treatment with a species key and a complete nomenclatural revision for the species *F. castroviejoii*, *F. desertorum* y *F. mareotica* are provided. Also the typification of four names (*F. spathulata* var. *alexandrina*, *F. spathulata* f. *evaciformis*, *Gifolaria floribunda* y *F. mareotica* var. *murcica*) were included.
12. The phylogenetic position of two insufficiently known species of the genus *Filago* distributed in North Africa and not included in former analyses, i.e., *Filago longilanata* (Maire & Wilczek) Greuter and *Filago prolifera* Pomel is investigated through phylogenetic analyses of ribosomic and plastid DNA sequences. Both species are found to be included into the "*Filago desertorum* clade".
13. Complete descriptions, a nomenclatural treatment, and the first iconographies and distribution maps for *F. longilanata* and *F. prolifera* are presented.
14. Ten pairs of microsatellite primers are identified and optimized on *F. lusitanica* (Samp.) P.Silva, *F. carpetana* (Lange) Chrték & Holub and *F. gaditana* (Pau) Andrés-Sánchez & Galbany. The new developed markers will be useful to go deeper into the phylogenetic relationships among the taxa within *Filago* L. subg. *Filago*. Transferability is performed in 24 samples corresponding to eight representative species of three other subgenera of *Filago*.

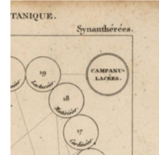


REFERENCES

- AFRICAN PLANT DATABASE** (version 4.3.9). Conservatoire et Jardin Botanique de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria. "Retrieved [August 2017]", from <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/>.
- ALBACH, D.C. & GREILHUBER, J.** 2004. Genome size variation and evolution in *Veronica*. *Ann. Bot.* 94: 897—911.
- ANDERBERG, A.A.** 1989. Phylogeny and reclassification of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Can. J. Bot.* 67: 2277—2296.
- ANDERBERG, A.A.** 1991a. Taxonomy and phylogeny of the tribe Gnaphalieae (Asteraceae). *Opera Bot.* 104: 5—195.
- ANDERBERG, A.A.** 1991b. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 176: 75—123.
- ANDERBERG, A.A., ELDENÄS, P., BAYER, R.J. & ENGLUND, M.** 2005. Evolutionary relationships in the tribe Inuleae (incl. Plucheeae) evidenced by DNA sequences of *ndhF*; with notes on the systematic position of some aberrant genera. *Org. Divers. Evol.* 5: 135—146.
- ANDERBERG, A.A.** 2009. Inuleae. Pp. 667—680 in: FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYES, R.J. (eds.). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2011. A nomenclatural treatment for *Logfia* Cass. and *Filago* L. (Asteraceae) as newly circumscribed: Typification of several names. *Taxon* 60(2): 572—576.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2013a. Taxonomic revision of the genus *Logfia* (Asteraceae, Gnaphalieae) in the Mediterranean region. *An. Jard. Bot. Madr.* 70: 7—18.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., TEMSH, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2013b. Genome size in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Phylogenetic, evolutionary and ecological implications. *Plant. Syst. Evol.* 299: 331—345.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2014. Revision taxonómica del género *Bombycilaena* (Asteraceae, Gnaphalieae). *Candollea* 69: 55—63.
- ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GALBANY-CASALS, M., BERGMEIER, E., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M.** 2015. Systematic significance and evolutionary dynamics of the achene twin hairs in *Filago* L. (Asteraceae, Gnaphalieae) and related genera: Further evidence of morphological homoplasy. *Plant. Syst. Evol.* 301: 1653—1668.
- ASEGINOLAZA, C., GÓMEZ, D., LIZAU, X., MONTSERRAT, G., MORANTE, G., SALAVERRÍA, M.R. & URIBE-ECHEBARRÍA, P.M.** 1984. *Catálogo florístico de Alava, Vizcaya y Guipúzcoa*. Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz, España.
- BARRENO, E., BRAMWELL, D., CABEZUDO, B., CARDONA, M. A., COSTA, M., FERNÁNDEZ CASAS, J., FERNÁNDEZ-GALIANO, E., FERNÁNDEZ PRIETO, J. A., GÓMEZ CAMPO, C., HERNÁNDEZ BERMEJO, E., HEYWOOD, V. H., IZCO, J., LLORENS, L., MOLERO MESA, J., MONTSERRAT, P., RIVAS MARTÍNEZ, S., SÁENZ LAÍN, C., SANTOS GUERRA, A., VALDÉS, B. & WILDPRET, W.** 1985. *Listado de las plantas endémicas, raras o amenazadas de España*. Información Ambiental MOPU 3: 48—71.
- BECK, G.** 1882. *Die europäischen Inula-Arten*. Der Kaiserlichen-Königlichen Hof- und Staatsdruckerei. Vienna. Austria.
- BENTHAM, G.** 1873. Tribus IV. Inuloideæ. Pp. 180—318 in: BENTHAM, G & HOOKER, J.D. (eds.) *Genera Plantarum*, vol. II. Lovell Reeve & Co., Londini, Britannia.



- CARRETERO, J.L. 2004. *Flora arvense española. Las malas hierbas de los cultivos españoles*. Phytoma-España S.L. Valencia. España
- CASSINI, H. 1822. XII.^e Tribu. Les Inulées (Inuleæ). Pp. 560—582 in: Cuvier, F. (ed.) *Dictionnaire des Sciences Naturelles*, vol. XXIII. Le Normant, Paris, France.
- CASTROVIEJO, S. ET AL. (COORDS. GENS.). 1986—. *Flora iberica*. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, Spain.
- CHRTEK, J. & HOLUB, J. 1963 Poznámky k taxonomii rodu *Evax* Gaertn. a *Filago* L. *Preslia* 35: 1—17.
- DICE, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26(3): 297—302.
- DUMAN, H. & ANDERBERG, A.A. 1999. An undescribed species of *Pentanema* Cass. (Asteraceae-Inuleae) from Turkey, with notes on the phylogenetic status of the genus. *Bot. J. Linn. Soc.* 129: 333—338.
- ELDENÄS, P., ANDERBERG, A.A. & KÄLLERSJÖ, M. 1998. Molecular phylogenetics of the tribe *Inuleae* s. str. (Asteraceae), based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pl. Syst. Evol.* 210: 159—173.
- ELDENÄS, P., KÄLLERSJÖ, M. & ANDERBERG, A.A. 1999. Phylogenetic placement and circumscription of tribes Inuleae s. str. and Plucheeae (Asteraceae): Evidence from sequences of chloroplast gene *ndhF*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13: 50—58.
- ENGLUND, M., PORNPONGRUNGUENG, P., GUSTAFSSON, M.H.G. & ANDERBERG, A.A. 2009. Phylogenetic relationships and generic delimitation in Inuleae subtribe Inulinae (Asteraceae) based on ITS and cpDNA sequence data. *Cladistics*. 25: 319—352.
- EMBERGER, L. & MAIRE, R. 1941. *Catalogue des plantes du Maroc. Volume IV*. Minerva. Alger. Argélie.
- EL OUALIDI, J., KHAMAR, H., FENNANE, M., IBN TATTOU, M., CHAUVET, S. & TALEB, M.S. 2012. *Checklist des endémiques et spécimens types de la flore vasculaire de l'Afrique du Nord*. Document de L'Institut Scientifique N°25, Université Mohammed V, Agdal. Rabat. Maroc
- EVANNO, G., REGNAUT, S. & GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611—2620.
- FENNANE, M. & IBN TATTOU, M. 1998. Catalogue des plantes vasculaires rares, menacées et endémiques du Maroc. *Bocconea* 8: 35—36.
- FUNK, V.A., SUSANNA, A., STUESSY, T.F. & BAYER, R.J. 2009. *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae*. International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.
- GALÁN & CELA, P. 1989. Tipificación de dos nombres de Pau y una nueva combinación en el género *Inula*. *Fontqueria* 27: 9—10.
- GALBANY-CASALS, M., ANDRÉS-SÁNCHEZ, S., GARCÍA-JACAS, N., SUSANNA, A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2010. How many of Cassini anagrams should there be? Molecular systematics and phylogenetic relationships in the “*Filago* group” (Asteraceae, Gnaphalieae), with special focus on the genus *Filago*. *Taxon* 59: 1671—1689.
- GREUTER, W. 2003. The Euro+Med treatment of Gnaphalieae and Inuleae (Compositae) – generic concepts and required new names. *Willdenowia* 33: 239—244.
- GREUTER, W. 2006+. *Filago* in: GREUTER, W. & RAAB-STRAUBE, E. (eds.) *Compositae. Euro+Med Plantdatabase* – the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. Available: <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameCache=Filago&PRefFk=7000000>. Accessed 11-08-2016.
- GUTIÉRREZ-LARRUSCAIN, D., SANTOS-VICENTE, M., ANDERBERG, A.A., RICO, E. & MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. 2017. Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*. *Taxon*, in press.



- HITCHCOCK, A.S. & GREEN, M.L.** 1929. *Standard-species of Linnean genera of Phanerogamae (1753-54)* Pp. 111—202 in: RAMSBOTTOM, J., WILMOTT, A.J., SPRAGUE, T.A. & WAKEFIELD, E.M. (eds.) *Nomenclatural proposals by British Botanists*. His Majesty's Stationery Office, London, United Kingdom.
- IBN TATTOU, M.** 2014. *Filago*. Pp. 178—186 in: FENNANE, M., IBN TATTOU, M. & EL OUALIDI, J. (eds.) *Flore Pratique du Maroc, Manuel de détermination des plantes vasculaires, vol 3. Dicotyledones (p.p.), Monocotyledones*. Institut Scientifique Université Mohammed V, Agdal. Rabat. Maroc.
- KIM, K.J. & JANSEN, R.K.** 1995. *ndhF* sequence evolution and the major clades in the sunflower family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92: 10379-10383.
- LABANI, R.M. & ELKINGTON, T.T.** 1987. Nuclear DNA variation in the genus *Allium* L. (Liliaceae). *Heredity* 59: 119—128
- LESSING, C.F.** 1832. *Synopsis Generum Compositarum*. Duncker & Jumbolt, Berolini, Borussia.
- LOSA, T.M. & MONTERRAT, P.** 1953. Nueva aportación al estudio de la flora de los montes cántabro-leoneses. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 11(2): 385—462.
- LOWE, A., HARRIS, S. & ASHTON, P.** 2004. *Ecological genetics: Design, Analysis and Application*. Blackwell Science, United States.
- NEI, M. & LI, W.H.** 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 186: 5269—5273.
- MALAUSA, T., GILLES, A., MEGLÉCZ, E., BLANQUART, H., DUTHOY, S., COSTEDOAT, C., DUBUT, V., PENCH, N., CASTAGNONE-SERENO, P., DÉLYE, C., FEAU, N., FREY, P., GAUTHIER, P., GUILLEMAUD, T., HAZARD, L., LE CORRE, V., LUNG-ESCAMANT, B., MAÉ, P. J., FERREIRA, S. & MARTIN, J.F.** 2011. High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Mol. Ecol. Resour.* 11 : 638—644.
- MEGLÉCZ, E., PECH, N., GILLES, A., DUBUT, V., HINGAMP, P., TRILLES, A., GRENIER, R. & MARTIN, J.F.** 2014. QDD version 3.1: A user friendly computer program for microsatellite selection and primer design revisited: experimental validation of variables determining genotyping success rate. *Mol. Ecol. Resour.* 14(6): 1302—1313.
- MERXMÜLLER, H., LEINS, P. & ROESSLER, H.** 1977. Inuleae-systematic review. Pp 577—602 in: HEYWOOD, V.H., HARBORNE, J.B. & TURNER, B.L. (eds.) *The biology and chemistry of the Compositae*, vol I. Academic Press, London, United Kingdom.
- MORENO, J. C. (COORD.)** 2008. *Lista Roja 2008 de la flora vascular española*. Dirección General de Medio Natural y Política Forestal (Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, y Sociedad Española de Biología de la Conservación de Plantas), Madrid. España.
- NYLINDER, S. & ANDERBERG, A.A.** 2015. Phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae) with special emphasis on the Inuleae-Plucheinae. *Taxon.* 64 (1): 110—130.
- OBBARD, D. J., HARRIS, S.A. & PANNELL, J.R.** 2006. Sexual systems and populations genetic structure in an annual plant: testing the metapopulation model. *Amer. Naturalist.* 167: 354—366.
- PAU, C.** 1904. Nuevas formas españolas de plantas. *Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat.* 3: 291.
- PAU, C.** 1907. Formas nuevas de plantas. *Bol. Soc. Aragonesa Ci. Nat.* 4: 25.
- PORNONGRUNGUENG, P., BORCHSENIUS, F., ENGLUND, M., ANDERBERG, A.A. & GUSTAFSSON, M.H.G.** 2007. [Phylogenetic relationships in *Blumea* \(Asteraceae: Inuleae\) as evidenced by molecular and morphological data.](#) *Plant Syst. Evol.* 269(3-4): 223—43.
- RANDALL, R.P.** 2007. *Global compendium of weeds*. <http://www.hear.org/gcw/>
- ROMERO, T. & RICO, E.** 1989. Flora de la cuenca del río Duratón. *Ruizia.* 8: 1—438.



- SANTOS-VICENTE, M.** 2013. *Estudio Biosistemático del género Inula L. (Asteraceae) en el Mediterráneo Occidental*. PhD dissertation, University of Salamanca, Salamanca, Spain.
- SANTOS-VICENTE, M., MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. & RICO, E.** 2013. *I. helenioides* DC., *I. langeana* Beck, *I. maletii* Maire, *I. montana* L., *I. oculus-christi* L. & *I. salicina* L. (Asteraceae). In: MARHOLD, K. (ed.), IAPT/IOPB chromosome data 16. *Taxon* 62(6): 1360, E15-E16.
- SCHUELKE, M.** 2000. An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. *Nat. Biotechnol.* 18: 233—234.
- URIBE ECHEBARRÍA, P.M.** 2008. *Inula helenioides* DC. in: GOMEZ, D. *et al.* (eds.), Atlas de la Flora de Aragón. Departamento de Medio Ambiente del Gobierno de Aragón (DGA) y Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). <http://floragon.ipe.csic.es/index.php>
- WAGENITZ, G.** 1968. *Filago desertorum* Pomel un *F. Hurdwarica* (DC.) Wagenitz, zwei verkannte Arten der “*Filago germanica*“-Gruppe aus Nordafrika, Vorder- und Zentral-asien. *Willdenowia* 4: 283—298.
- WAGENITZ, G.** 1969. Abgrenzung und Gliederung der Gattung *Filago* L. *s.l.* (Compositae-Inuleae). *Willdenowia* 5: 395—444.
- WATANABE, K.** 2012. *Index to Chromosome numbers in Asteraceae*. http://www.lib.kobeu.ac.jp/infolib/meta_pub/G0000003asteraceae_e.

