

# Primi risultati dello studio tassonomico di *Anthyllis vulneraria* L. nell'Appennino centrale

FABIO TAFFETANI, ANDREA GIANNANGELI

*Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali, Università Politecnica delle Marche, via Breccie bianche, 60131 Ancona (Italy); e-mail: f.taffetani@univpm.it*

Key words: *Anthyllis vulneraria* L., Italian Central Apennines, taxonomy, ecology, morphology, Its

## SUMMARY

The most widespread species for the genus *Anthyllis* L. is *Anthyllis vulneraria* L. and over 30 intraspecies taxa have been identified, based on plant morphology, throughout Europe and the Mediterranean basin. The variability of this group was investigated through ecological, morphometric and molecular analyses of four intraspecies taxa along the Italian Central Apennines. In the ecological analysis were studied habitat, exposures, edaphic conditions and altitudinal distribution; the morphological study was assessed measuring over 40 qualitative and quantitative characters. To study the molecular phylogeny of this group and to compare it with the precedent investigations based on morphological and ecological traits, the sequences of the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 of the nuclear ribosomal DNA of about 80 entities were obtained and analysed. The results of the analyses were in contrast with the actual classification system and suggest a revision of the taxonomy of the group.

## INTRODUZIONE

Scopo della presente ricerca è quello di fornire un contributo alla caratterizzazione tassonomica del gruppo di *Anthyllis vulneraria* L. subsp. plur. (Fig. 1, limitatamente all'area appenninica dell'Italia centrale. Lo studio è stato fondato su tre differenti indirizzi di ricerca, quello ecologico, morfologico e molecolare, mentre l'obiettivo ultimo è quello di ottenere un quadro più ampio ed esaustivo possibile che descriva al meglio la complessità del gruppo indagato.

Oggetto di studio sono stati i campioni dell'*Herbarium* Brillì-Cattarini *De Planta-Salis* (PESA), preventivamente revisionati prima di procedere alle successive indagini, insieme a una collezione inedita di accessioni derivanti da raccolte e determinate nell'ambito di questa ricerca negli anni 2003-2004 e conservate presso l'*Herbarium Anconitanum* (ANC). Obiettivo di questa preliminare indagine di revisione è stato quello di accertare analiticamente l'eventuale presenza e la corrispondenza che i campioni d'erbario, relativi a questa porzione di territorio, possono dimostrare con le descrizioni riportate in letteratura.



Fig. 1 – *Anthyllis vulneraria* L. subsp. *rubriflora* (DC.) Arcangeli

Se da un lato l'indagine è dunque saldamente supportata dai tre differenti studi scientifici, dall'altro bisogna metterne in evidenza anche i limiti, essenzialmente di natura geografica, che circoscrivono una area di piccola scala rispetto l'intero areale di diffusione delle popolazioni di *Anthyllis vulneraria* in Italia. Da ciò ne consegue che anche il numero dei taxa sottospecifici presi in esame risulterà incompleto ma comunque rappresentativo per il territorio indagato.

Le popolazioni di *Anthyllis vulneraria* L. subsp. plur., di seguito denominate *A. v.*, prese in esame per l'area centro appenninica sono: *A. v.* subsp. *polyphylla* (DC.) Nyman, *A. v.* subsp. *rubriflora* (DC.) Arcangeli, *A. v.* subsp. *pulchella* (Vis.) Bornm., *A. v.* subsp. *weldeniana* (Rchb.) Cullen, estendendo la ricerca anche verso *A. v.* subsp. *vulneraria*, *A. v.* subsp. *maura* (Beck) Linbd., e infine un gruppo di individui di dubbia attribuzione provenienti dai Monti della Laga.

*Anthyllis vulneraria* L. (fam. *Leguminosae*, sottofam. *Faboideae*) è una specie emicriptofitica a diffusione Eurimediterranea caratterizzata da una notevole amplitudine ecologica, pur prediligendo le aree calcaree xerofile; essa può essere rinvenuta dall'ambiente costiero, *A. v.* subsp. *maritima* Schwitter, fino alle catene montuose più elevate, *A. v.* subsp. *vulnerarioides* (All.) Arcangeli, *A. v.* subsp. *alpestris*

Ascherson & Graebner e agli ambienti più freddi, *A. v.* subsp. *lapponica* (Hyl.) Jalas, *A. v.* subsp. *borealis* (Rouy) Jalas. Si tratta di un gruppo ancora poco studiato e caratterizzato da un'estrema polimorfia, dove singole popolazioni appaiono scarsamente distinte, essendo comunque collegate da popolazioni intermedie che ne rendono difficile una separazione netta (Pignatti, 1982). Gli studi presenti in bibliografia spaziano dal campo biologico a quello morfologico, fino ai più complessi di tipo molecolare, mostrando però risultati non sempre concordanti tra loro.

## AREA INDAGATA

### Inquadramento geografico e geologico

L'area geografica indagata comprende circa 70 località distribuite in prevalenza lungo la dorsale umbro-marchigiana, la dorsale marchigiana, la dorsale dei monti di Cingoli, il massiccio dei Monti Sibillini, il complesso della Laga, del Gran Sasso e della Maiella (Fig. 2). In misura minore sono invece i rilevamenti compiuti nei settori collinari compresi nella sinclinale di Camerino-Fabriano e nella zona orientale della dorsale marchigiana che termina con la costa adriatica. Dal punto di vista geologico e morfologico il territorio può essere suddiviso nei seguenti sistemi di paesaggio (AA.VV., 2001):

- Substrati pelitico-arenacei: originano i rilievi collinari dalle morfologie dolci e ondulate che si estendono prevalentemente dal settore orientale della dorsale marchigiana fino alla costa; in questa categoria sono state comprese anche i substrati dei fondovalle costituiti da depositi alluvionali terrazzati.
- Substrati arenacei: diffusamente localizzati nel settore meridionale della regione Marche, nell'area dei monti della Laga e in piccoli lembi del Pesarese, dove originano morfologie aspre con pendii acclivi.
- Substrati marnoso-arenacei: rappresenta l'area collinare compresa tra le due dorsali calcaree dove prevalgono i litotipi marnosi e marnoso-arenacei; comprende anche le formazioni torbiditiche con alternanza di marne e arenarie del settore nord occidentale della regione Marche, con rilievi aspri e accidentati.
- Substrati calcarei: è il litotipo predominante dei rilievi appenninici a volte intercalato con strati silicei e marnosi; generalmente i rilievi superano i 1.000 m spingendosi anche oltre i 2.000 m.

### Bioclimatologia

Il territorio indagato rientra interamente nella regione macrobioclimatica Temperata con bioclima Temperato oceanico e solo per le stazioni prossime alla costa, si può parlare di una variante bioclimatica submediterranea. I piani bioclimatici sono correlati all'altezza e alle caratteristiche fisiografiche del territorio e vanno dal Mesotemperato (piano collinare) all'Orotemperato (piano subalpino).

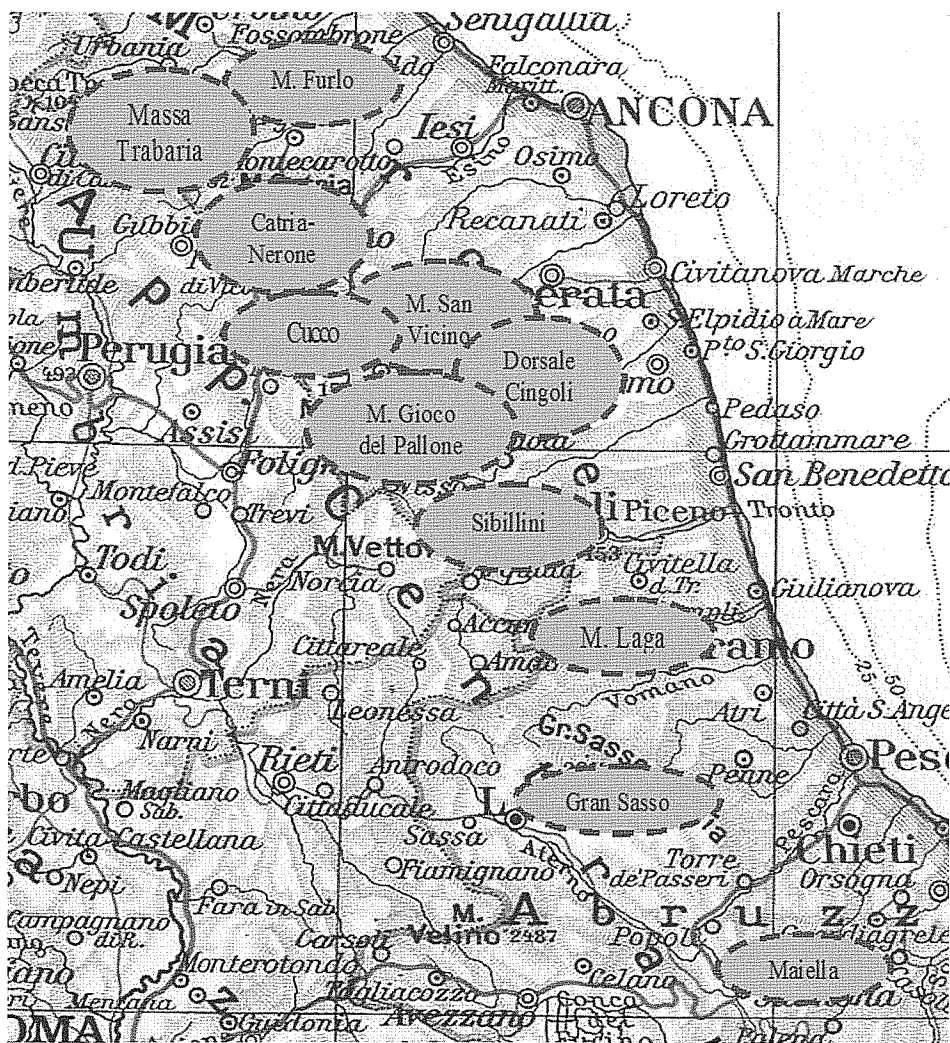


Fig. 2 - Aree di studio

Per l'inquadramento bioclimatico si è fatto riferimento agli indici di Rivas-Martinez et al. (1999) riportati in precedenti studi fitosociologici (Tab. I).

#### TASSONOMIA E COROLOGIA DELLE ENTITÀ IN ITALIA

Considerando l'elevata polimorfia della specie e basandosi esclusivamente sui caratteri morfologici, lo schema tassonomico corrente, riportato in Flora europea (Tutin et al., 1968-1980, 1993), prevede oltre trenta sottospecie e la presenza di numerose forme intermedie. Vengono di seguito riportate le entità sottospecifiche

Tab. I - Classificazione bioclimatica secondo Rivas-Martinez

Stazioni	Altezza(m)	Bioclima	Piano bioclimatico	Ombrotipo
Passo Lanciano	1470	Temperato oceanico	Supratemperato sup.	Umido inf.
Campo Imperatore	2137	Temperato oceanico	Orotemperato	Ipermudido
Teramo	300	Temperato oceanico	Mesotemperato.	Subumido
Monti della Laga (Ginepri)	820	Temperato oceanico	Mesotemperato sup.	Umido inf.
Bologna	1445	Temperato oceanico	Supratemperato sup.	Ipermudido inf.
Ussita	813	Temperato oceanico	Supratemperato inf.	Umido inf.
Monte Bove Sud	1950	Temperato oceanico	Orotemperato inf.	Umido sup.
Cingoli	631	Temperato oceanico (submediterraneo)	Mesotemperato sup.	Umido inf.
Fabriano	357	Temperato oceanico (submediterraneo)	Mesotemperato sup.	Umido inf.
Scheggia	590	Temperato oceanico	Mesotemperato sup.	Umido inf.
Fonte Avellana	689	Temperato oceanico	Supratemperato inf.	Ipermudido inf.
Massa Trabaria	863	Temperato oceanico	Supratemperato inf.	Umido inf.

di *Anthyllis vulneraria* attualmente riconosciute per l'Italia con la relativa distribuzione regionale (Figg. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). La nomenclatura e gli areali sono stati desunti da Checklist of the Italian Vascular Flora (Abbate et al., 2005); il punto interrogativo indica la presenza dubbia dell'entità per quella regione mentre l'asterisco designa i taxa che sono stati oggetto di indagine nel presente lavoro.

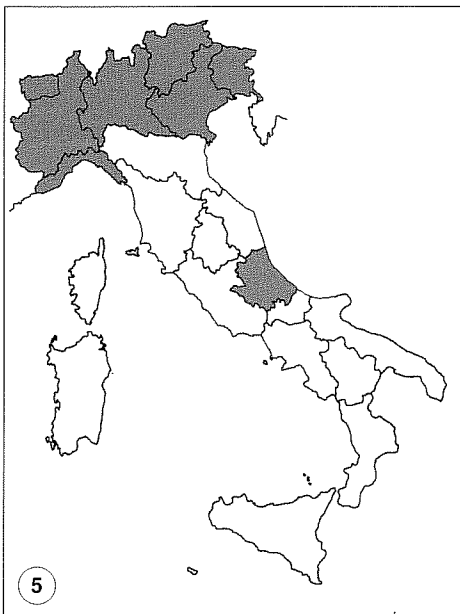
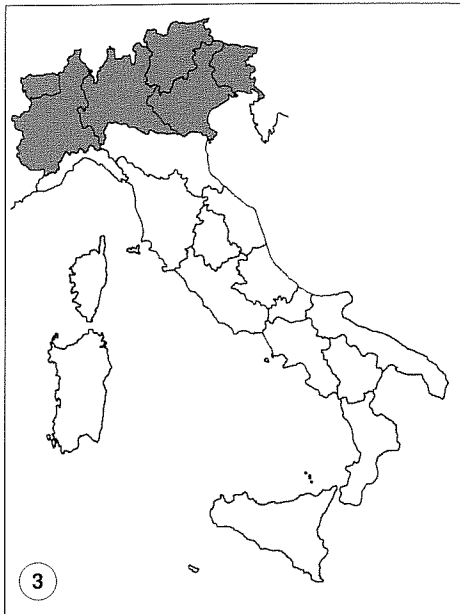
La tendenza che emerge dal confronto tra Flora d'Italia (Pignatti, 1982) e Checklist of the Italian Vascular Flora (Abbate et al., 2005), è quella di una semplificazione del numero di taxa afferenti al gruppo *Anthyllis vulneraria* L.

Nel corso del presente studio e per l'area indagata, non sono state rinvenute le entità *A. v.* L. subsp. *vulnerarioides* (All.) Arcang. e *A. v.* L. var. *nana* Ten. La prima è stata indicata per l'Appennino centrale e meridionale dai Sibillini al Pollino (Pignatti, 1982; Tutin et al. 1964-1980) ed è stata oggetto di osservazione (Conti, 1998; Ballelli et al., 2005); la seconda invece è endemica del centro Appennino e viene strettamente correlata a *pulchella* e *vulnerarioides* (Tammaro, 1984). Per l'area indagata, si ritiene che tutte le forme rinvenibili al di sopra dei 1.800 m possano essere attribuite ad *A. v.* L. subsp. *weldeniana* (Rchb.) Cullen, la quale denota una grande amplitudine ecologica ed elevata polimorfia rispetto alla forma tipica che si rinviene nel piano collinare.

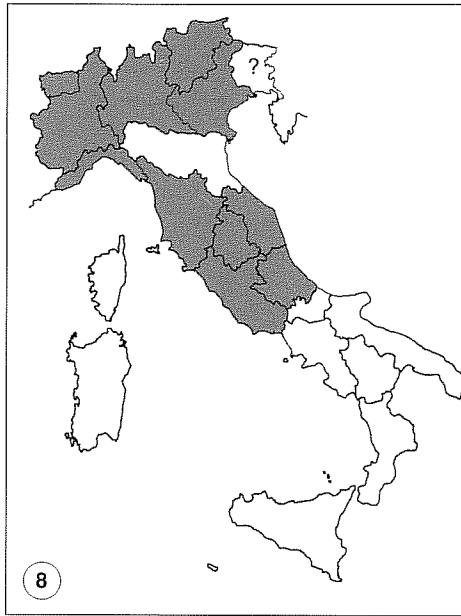
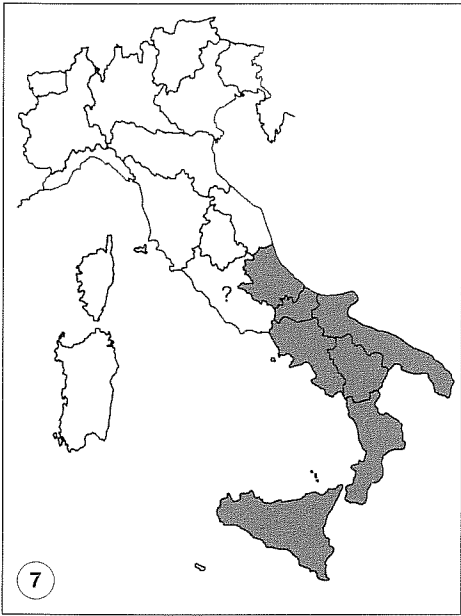
## INDAGINE ECOLOGICA

### Materiali e metodi

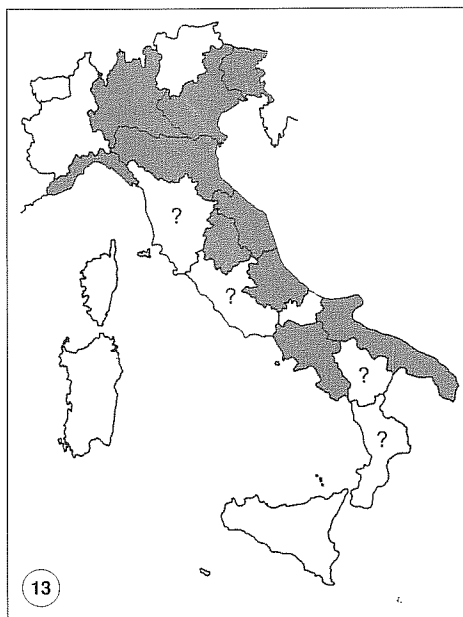
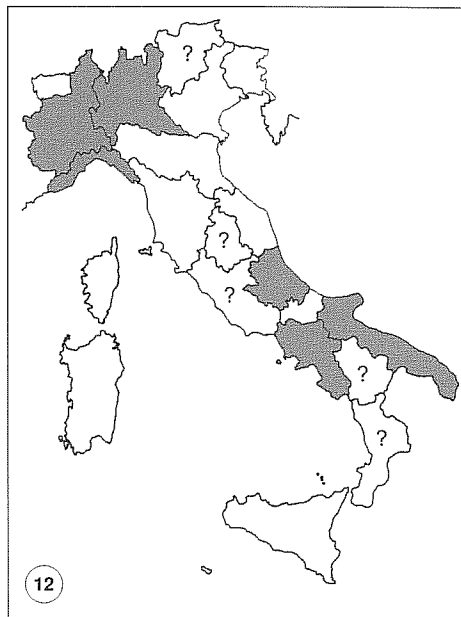
I cartellini delle accessioni dei campioni d'erbario possono fornire preziose informazioni sull'ecologia e la distribuzione delle specie vegetali. Grazie all'accurata e scrupolosa raccolta delle annotazioni ecologiche, geografiche e pedologiche effet-



Figg. 3-13 - Taxa di *A. v.* riconosciuti a oggi per l'Italia e relativa distribuzione regionale (? = presenza dubbia; \* = taxa considerati nella presente indagine). Fig. 3 - *A. v. L.* subsp. *alpestris* (Kit. ex Schult.) Asch. et Graebn. Fig. 4 - *A. v. L.* subsp. *busambarensis* (Lojac.) Pignatti. Fig. 5 - *A. v. L.* subsp. *carpatica* (Pant.) Nyman. Fig. 6 - *A. v. L.* subsp. *forondae* (Sennen) Cullen



Figg. 3-13 - Taxa di *A. v.* riconosciuti a oggi per l'Italia e relativa distribuzione regionale (? = presenza dubbia; \* = taxa considerati nella presente indagine). Fig. 7 - *A. v.* L. subsp. *maurea* (Beck) Maire. Fig. 8 - \**A. v.* L. subsp. *polyphylla* (DC.) Nyman. Fig. 9 - \**A. v.* L. subsp. *pulchella* (Vis.) Bornm. Fig. 10 - \**A. v.* L. subsp. *rubriflora* (DC.) Arcang.



Figg. 3-13 - Taxa di *A. v.* riconosciuti a oggi per l'Italia e relativa distribuzione regionale (? = presenza dubbia; \* = taxa considerati nella presente indagine). Fig. 11 - *A. v.* L. subsp. *valesiaca* (Beck) Guyot. Fig. 12 - *A. v.* L. subsp. *vulnerarioides* (All.) Arcang. Fig. 13 - *A. v.* L. subsp. *weldeniana* (Rchb.) Cullen



tuare dai raccoglitori e all'informatizzazione dei dati, è stato possibile delineare una caratterizzazione ecologica per ciascun gruppo sottospecifico. Prevalentemente le informazioni sono state desunte dai cartellini d'erbario delle accessioni depositate all'*Herbarium* Brillì-Cattarini *De Planta-Salis*, del Centro Ricerche Floristiche Marche (PS), per un totale di 885 *exsiccata* di *A. v.* subsp. raccolti nella regione fisica delle Marche. Inoltre, nel corso degli anni 2003-2004 sono state condotte ulteriori erborizzazioni nei principali rilievi montuosi dell'Appennino centrale, al fine di integrare il set iniziale con altre 58 accessioni; tutti i campioni sono depositati presso L'*Herbarium Anconitanum* dell'Università Politecnica delle Marche.

L'area geografica indagata comprende circa 70 località distribuite tra Marche, Umbria e Abruzzo e in totale sono stati analizzati i dati di 943 campioni d'erbario di *A. v.* subsp., così suddivisi: *weldeniana* (53%), *polyphylla* (16%), *rubriflora* (13%), *pulchella* (11%), *maura* (1%), *vulneraria* (1%), indeterminate (5%). I campioni d'erbario indeterminati e quelli attribuiti ai gruppi *maura* e *vulneraria* (questi ultimi considerati di presunta origine antropica, trattasi cioè di popolazioni introdotte tramite interventi di inerbimento al Monte Nerone) (comunicazione verbale di Brillì-Cattarini), non sono stati presi in esame nella trattazione.

### Fattori ecologici di indagine

Le categorie informative desunte dai cartellini d'erbario sono state quattro e riguardano: la fisionomia dell'ambiente di raccolta (*habitat*), il litotipo, l'esposizione, il piano altitudinale.

Su base fisionomica sono state individuate nove tipologie di ambienti: pascoli, pascoli aperti, praterie, praterie aperte, prati-pascolo, boschi, ambienti di margine, ambienti rupestri, coltivi abbandonati; i prati e i pascoli aperti sono quelli in cui si evince una chiara presenza di sassi e materiale detritico superficiale.

La categoria litotipo è stata integrata e uniformata avvalendosi della Carta dei Sistemi di Terre (AA.VV., 2001, modificata) ed è suddivisa in 4 classi: arenarie e peliti, arenarie, marne e arenarie, calcari. L'esposizione è stata distinta negli otto punti cardinali: N, NE, E, SE, S, SO, O, NO.

I piani altitudinali sono stati ottenuti suddividendo le altezze riportate sui cartellini in 6 classi: piano basso-collinare o mesotemperato inferiore (0-500 m slm), piano-alto collinare o mesotemperato superiore (500-1.000 m slm), piano bassomontano o supratemperato inferiore (1.000-1.400 m slm), piano alto-montano o supratemperato superiore (1.400-1.800 m slm), piano subalpino o orotemperato (1.800-1.900 m slm), piano alpino o criotemperato (> 1.900 m slm).

### Risultati

Relativamente alla categoria "habitat" i taxa indagati prediligono gli ambienti prativi e pascolivi (circa 90%), mentre in misura assai minore colonizzano gli am-

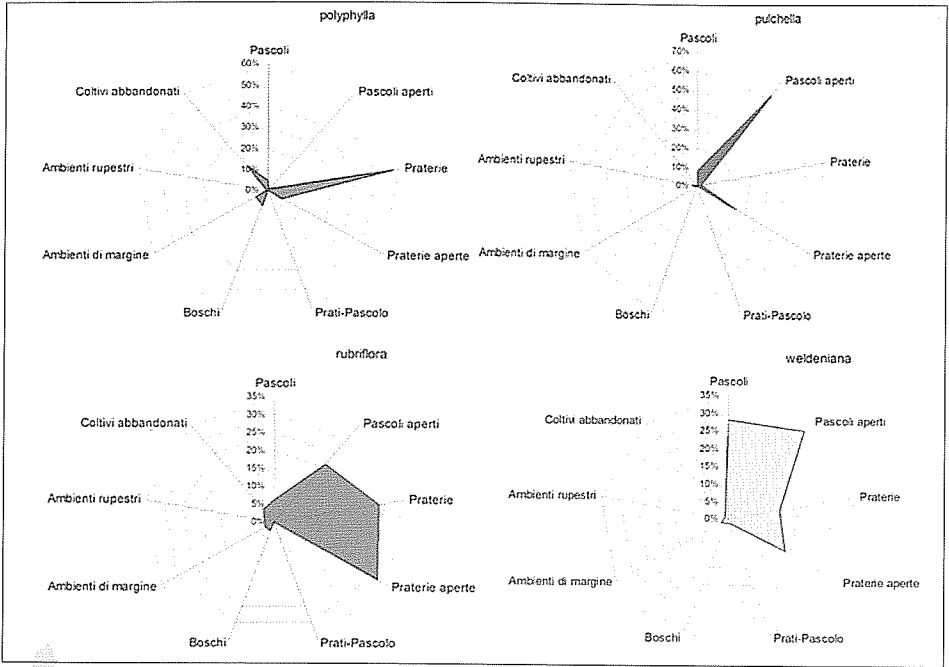


Fig. 14 - Distribuzione di *A. v.* subsp. per fisionomia ambientale (habitat)

bienti aperti e di margine quali radure, scarpate stradali, incolti e boschi (Fig. 14).

Per quanto riguarda invece la distribuzione dei singoli gruppi sottospecifici nei diversi habitat (Tab. II) emerge una chiara dominanza di *A. v.* subsp. *weldeniana* in tutti gli ambienti prativi e pascolivi (94%), tendenza che in parte ritroviamo per *A. v.* subsp. *rubriflora*, la quale però denota una certa diffusione anche presso i boschi e le cenosi marginali; per *A. v.* subsp. *pulchella* la distribuzione è concentrata prevalentemente nei pascoli aperti (86%) dove a volte condivide il proprio habitat insieme ad *A. v.* subsp. *weldeniana*, soprattutto nelle

Tab. II - Fisionomia ambiente di raccolta

Habitat	<i>weldeniana</i>	<i>polyphylla</i>	<i>rubriflora</i>	<i>pulchella</i>	Indet.	Totale
Praterie aperte	51%	9%	53%	86%	29%	45,2%
Praterie e pascoli	42%	62%	34%	10%	67%	42,4%
Prati-Pascolo	1%	0%	0%	0%	0%	0,2%
Boschi	1%	8%	3%	0%	0%	2,4%
Ambienti di margine	2%	6%	3%	1%	5%	3,4%
Ambienti rupestri	1%	1%	3%	3%	0%	1,6%
Coltivi abbandonati	1%	15%	4%	0%	0%	4,0%
Totale	100%	100%	100%	100%	100%	100%

zone sommitali in presenza di scheletro roccioso affiorante; *A. v.* subsp. *polyphylla* mostra invece una presenza localizzata prevalentemente nelle praterie (62%).

Sono rari i casi in cui si può osservare la presenza contemporanea di più entità sottospecifiche all'interno della medesima fitocenosi: al Monte Faldobono (Gruppo del Monte San Vicino) tre distinte popolazioni (*pulchella*, *weldeniana* e probabilmente *rubriflora*) coesistono insieme; situazioni analoghe sono state osservate anche al Monte Cucco e al Monte Puro (Gruppo Monte Gioco del Pallone) dove all'interno dei popolamenti di *weldeniana* è possibile rinvenire in forma sporadica individui di *pulchella*. Si ipotizza che in aree dalla morfologia complessa, dove si può facilmente realizzare la compresenza di praterie xeriche, su substrato detritico e roccioso, insieme a prati polifittici su suolo profondo, possa determinare la penetrazione delle popolazioni di *pulchella*, che presentano una ecologia più stretta e legata ad ambienti erbosi aridi, all'interno dei più estesi popolamenti di *weldeniana*, che al contrario mostra maggiore plasticità ecologica.

In base alla litologia, si nota per tutti i taxa una netta preferenza verso i litotipi basici (Fig. 15) essendo infatti prevalentemente localizzati nei rilievi mon-

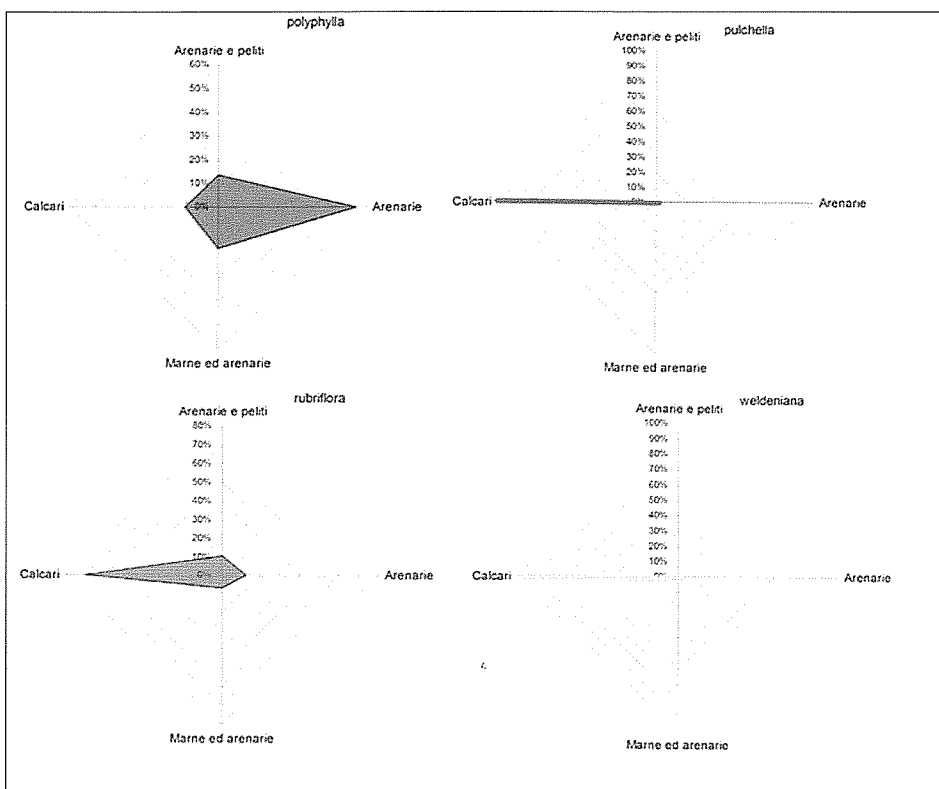


Fig. 15 – Distribuzione di *A. v.* subsp. in relazione al litotipo

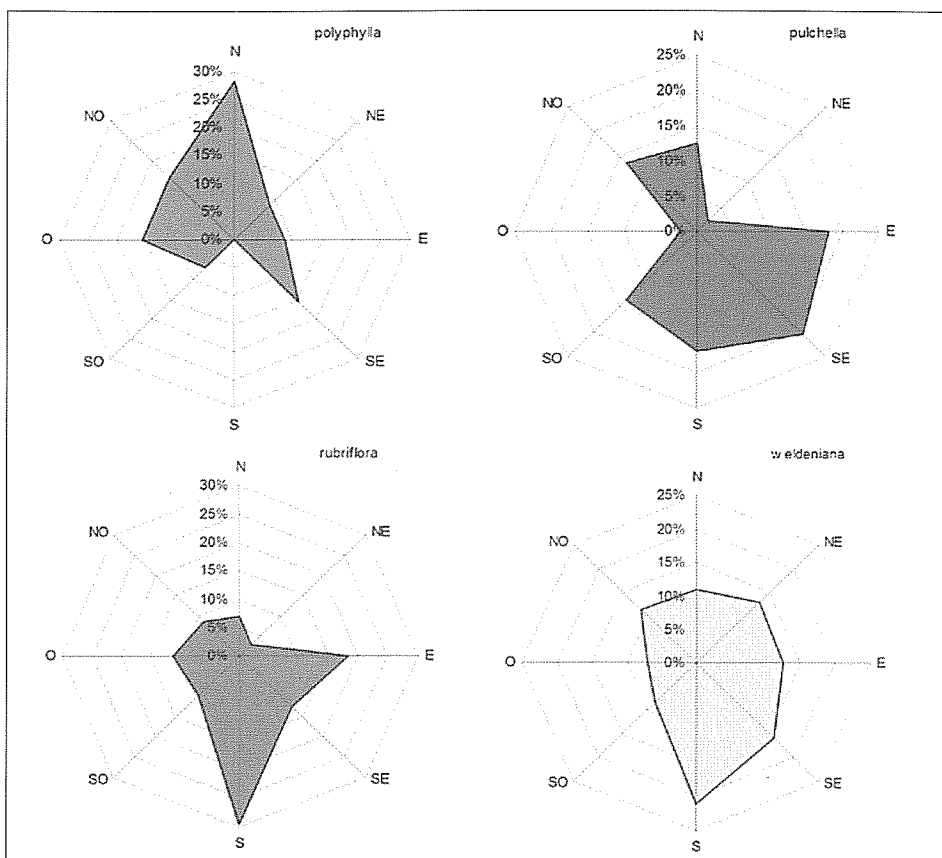


Fig. 16 – Distribuzione di *A. v.* subsp. in relazione all'esposizione

tuosi calcarei mentre soltanto i taxa appartenenti a *polyphylla* si possono rinvenire anche nelle stazioni arenacee.

Considerando il parametro esposizione (Fig. 16), i taxa esaminati denotano una maggior partecipazione nelle esposizioni più calde comprese tra est, sud-est e sud, mentre soltanto *A. v.* subsp. *polyphylla* si distingue per il maggior contributo di presenze negli ambienti più freschi esposti a N.

Relativamente al gradiente altimetrico la maggiore frequenza di taxa si rinviene tra il piano mesotemperato superiore e quello supratemperato inferiore, e in particolare *A. v.* subsp. *weldeniana* è l'unica sottospecie rinvenibile dal piano mesotemperato inferiore al criotemperato (Fig. 17). Il limite massimo registrato per questo taxa è di 2.100 m (Monte Porche-Sibillini), dove in risposta alle difficili condizioni edafo-climatiche, assume un habitus prostrato con fusti disposti a raggiera e sviluppa una pelosità irsuta e folta sul fusto, sulla pagina inferiore delle foglie e sul calice. Di contro *A. v.* subsp. *pulchella* evidenzia una presenza quasi

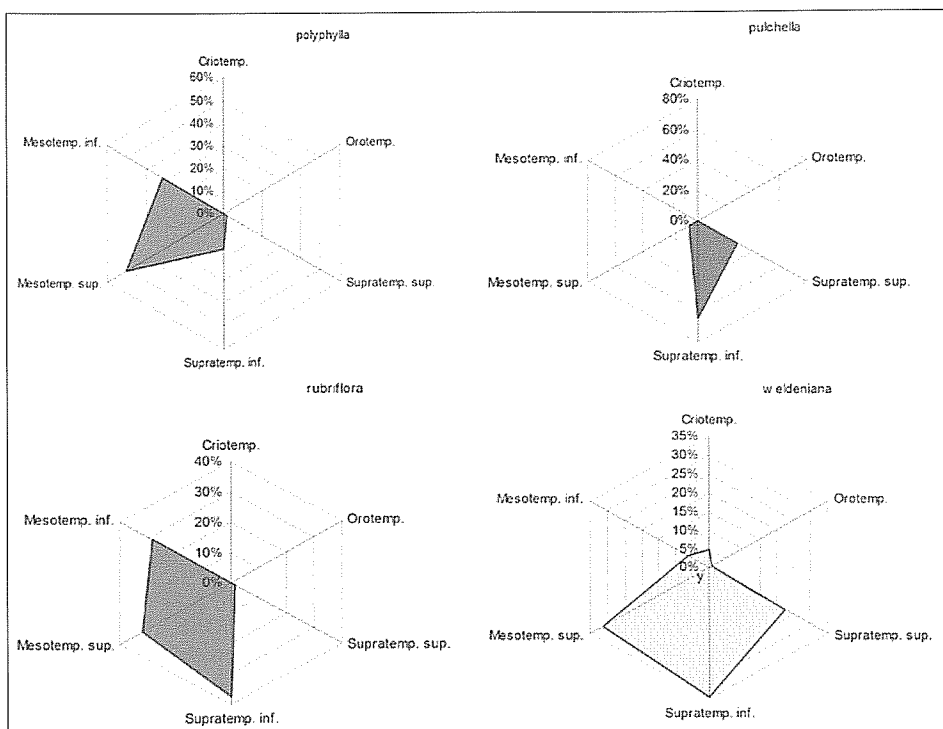


Fig. 17 – Distribuzione di *A. v.* subsp. in relazione ai piani altitudinali

esclusivamente relegata nel piano supratemperato inferiore (65%) mentre *A. v.* subsp. *rubriflora* e *A. v.* subsp. *polyphylla* sono mediamente distribuite dal piano mesotemperato inferiore al piano supratemperato inferiore. Di seguito sono riasunte le principali caratteristiche ecologiche per ciascun taxa (Tab. III).

Tab. III - Confronto delle principali caratteristiche ecologiche delle popolazioni di *A. v.* appartenenti alle subsp. indagate

subsp.	Habitat	Litotipo	Esposizione	Piano altitudinale
<i>weldeniana</i>	pascoli e praterie aperte	calcari	S-SE	alto collinare-basso montano
<i>polyphylla</i>	praterie e margini erbosi	arenarie	N-NO-O	basso-alto collinare
<i>pulchella</i>	praterie aperte	calcari	E-SE-S	basso montano
<i>rubriflora</i>	praterie aperte, pascoli	calcari	E-SE-S	alto collinare-basso montano

## FITOSOCIOLOGIA

Attraverso l'implementazione dell'indagine fitosociologica è stato possibile estendere lo studio di *A. v.* dal livello del singolo individuo (o di popolazione della stessa entità) a quello di comunità vegetale, al fine di perseguire una descrizione più dettagliata degli aspetti ecologici del gruppo.

Esaminando le tabelle fitosociologiche di precedenti studi, Allegrezza (2003), Allegrezza et al. (1997), Baldoni et al. (1996), Ballelli e Biondi (1982), Biondi et al. (1999), Biondi et al. (2000), Biondi et al. (1995), Biondi et al. (2004), Biondi et al. (1990), Francalancia et al. (1981), Taffetani et al. (2004), sono state definite le principali cenosi vegetali in cui sono stati rinvenuti individui di *Anthyllis vulneraria* definiti fino al livello sottospecifico.

Da questa prima analisi emerge chiaramente come le sottospecie di *A.v.* trovano il loro habitat ottimale all'interno della classe *Festuco-Brometea*, che individua tutte le praterie mesofitiche e xerofitiche a prevalenza di emicriptofite presenti nella regione eurosiberiana e mediterranea, su suoli basici e generalmente profondi. Minore è invece il contingente di taxa che penetrano nelle altre classi: *Carici rupestris-Kobresietea bellardii*, che definisce la vegetazione delle praterie steppiche e alpine; *Festuco-Seslerietea*, che inquadra la vegetazione delle praterie perenni calcicole e xerofitiche dei piani bioclimatici alpino, sub-alpino e montano della regione eurosiberiana; *Nardetea strictae* che raggruppa le praterie perenni mesoigrofile dei suoli profondi e acidi della regione Atlantico-Medio-Europea e Mediterranea occidentale al di sopra del piano bioclimatico montano; *Rosmarinetea officinalis*, la quale invece riunisce la vegetazione camefitica e nanofanerofitica calcicola che si sviluppa su suoli poveri e pietrosi dei settori occidentale e centrale del Mediterraneo. Di seguito si descrivono in ordine sintassonomico le associazioni vegetali individuate, l'elenco dei taxa rinvenuti e le aree geografiche di interesse.

*Carici rupestris-Kobresietea bellardii* Ohba 1974

+ *Oxytropido-Elynetalia myosuroidis* Oberdorfer ex Albrecht 1957

\* *Oxytropido-Elynion myosuroidis* Br.-Bl. 1949

*Leontopodio nivalis-Elynetum myosuroidis* Feoli-Chiapella e Feoli 1977

Descrizione: descrive la vegetazione pascoliva climacica del Piano alpino del Gran Sasso

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*, *A.v.* subsp. *vulnerarioides*

Luoghi: Corno Grande, Maiella

*Festuco-Seslerietea* Barbéro e Bonin 1969

+ *Seslerietalia tenuifoliae* Horvat. 1930

\* *Seslerion apenninae* Furnari ex Bazzichelli e Furnari 1979

*Carici humilis-Seslerietum apenninae* Biondi, Guitan, Allegrezza e Zuccarello 1988

Descrizione: inquadra le praterie discontinue di cresta e dei versanti interessati da fenomeni di crioturbazione dell'Appennino calcareo centro-meridionale.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *rubriflora*, *A.v.* subsp. *weldeniana*, *A.v.* subsp. *pulchella*

Luoghi: gruppo dei monti Cucco, San Vicino, Gemmo, Campo Imperatore

*Carex macrolepis-Seslerietum apenninae* Biondi, Pinzi e Gubellini 2004  
Descrizione: pascoli aperti e xerofili con dominanza di *Sesleria apennina* e *Carex macrolepis* che si sviluppano su versanti con esposizione calde

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo del Monte Cucco

*Caricetum kitaibelianaerupestris* Biondi, Allegrezza, Ballelli e Taffetani 2000  
Descrizione: indica le formazioni edafoxerofile a *Carex kitaibeliana* e *Carex ruprestis* del piano bioclimatico alpino del Corno Grande

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *vulnerarioides*

Luoghi: Corno Grande

Nardetea strictae Oberd. 1949

+ Nardetalia strictae Oberd. ex Prsg. 1949

\* *Ranunculo pollinensis-Nardion strictae* Bonin 1972

*Ranunculo pollinensis-Plantaginetum atratae* Biondi, Allegrezza, Ballelli e Taffetani 2000

Descrizione: si riferisce alla vegetazione delle microdoline del piano bioclimatico alpino, con lunghi periodi di innevamento e suolo decarbonatato

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *vulnerarioides*

Luoghi: Corno Grande

Festuco-Brometea Br.-Bl. & Tx. in Br.-Bl. 1949

+ Brometalia erecti Br.-Bl. 1936

++ Artemisio albae-Bromenalia erectis Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

\* *Phleo ambigu-Bromion erecti* Biondi & Blasi ex Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

*Brizo mediae-Brometum erecti* Bruno in Bruno e Covarelli 1968 corr. Biondi e Ballelli 1982

Descrizione: l'associazione si rinviene sui suoli profondi ed evoluti dell'Appennino centrale su litotipo calcareo, in condizioni di morfologia leggermente acclive o subpianeggiante. Sono delle praterie a *Bromus erectus* mesofile, continue e polifittiche che possono essere mantenute con il pascolamento o lo sfalcio una volta l'anno.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *rubriflora*, *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo dei monti Nerone, Catria, Cucco e San Vicino

*Seslerio nitidae-Brometum erecti* Bruno in Bruno e Covarelli 1968

Descrizione: definisce le praterie emicriptofitiche xerofile a *Sesleria nitida*, su suoli poco evoluti del tipo rendzina, nel piano montano dei rilievi calcarei della Dorsale Umbro-Marchigiana

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo dei monti Nerone, Catria, Maiella

*Asperulo purpureae-Brometum erecti* Biondi e Ballelli ex Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

Descrizione: descrive le praterie xerofile a *Bromus erectus* e *Asperula purpurea* diffuse nel piano collinare dei rilievi calcarei dell'Appennino centrale, su suoli poco profondi ed evoluti

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *pulchella*, *A.v.* subsp. *rubriflora*, *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo dei monti Nerone, Cucco, San Vicino, Dorsale Cingoli

*Potentillo cinereae-Brometum erecti* Biondi, Pinzi e Gubellini 2004

Descrizione: associazione vegetale del piano bioclimatico supratemperato compresa tra 1.000-1.400 m, che si sviluppa nei versanti acclivi con esposizioni calde, caratterizzata da *Potentilla cinerea*, *Centaurea ambigua*, *Alyssum montanum*, *Centaurea triumfetti*, *Minuartia verna*.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *rubriflora*, *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo dei monti Cucco e Subasio

*Filipendulo vulgaris-Trifolietum montani* Francalancia C., Hruska K., e Orsomando E., 1981

Descrizione: si tratta di una vegetazione a cotico erboso continuo che si sviluppa nei settori sommitali o nei terreni più o meno inclinati, dove il terreno può beneficiare di un maggior apporto di umidità in seguito allo scioglimento della neve nel periodo primaverile, per poi assumere condizioni sempre più xeriche.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Prati di Ragnolo

\*\**Brachypodienion genuensis* Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

*Polygalo majoris-Seslerietum nitidae* Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

Descrizione: si riferisce alle praterie xerofile discontinue a *Sesleria nitida* e *Polygala major* che si sviluppano sui rilievi calcarei più caldi del Gran Sasso ad altezze comprese tra 1.400-1.780 m

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Campo imperatore

*Cirsio acaulis-Seslerietum nitidae* Biondi, Ballelli, Allegrezza, Frattaroli e Taffetani 1992

Descrizione: pascolo emicriptofitico e mesofilo a *Sesleria nitida* dei settori sub-pianeggianti caratterizzati da ristagno idrico invernale del piano di Campo Imperatore

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Campo Imperatore

*Poo alpinae-Festucetum circummediterraneae* Biondi, Ballelli, Allegrezza, Frattaroli e Taffetani 1992



Descrizione: rappresenta i pascoli a *Festuca circummediterranea* dei settori planiziali di Campo Imperatore, che poggiano su terreni ricchi di sostanza organica e con buon contenuto idrico.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Campo Imperatore

*Plantago holostei-Helianthemum cani* Biondi, Ballelli, Allegrezza, Frattaroli e Taffetani 1992 nom. inv. Biondi e Ballelli 1995

Descrizione: inquadra le praterie camefitiche discontinue a *Helianthemum canum* dei rilievi calcarei dell'Appennino centrale compresi tra 1.300-1.700 m, su terreni leggermente acclivi e con poco suolo.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Campo imperatore

*Carici macrolepis-Brachypodium genuensis* Biondi, Pinzi e Gubellini 2004

Descrizione: praterie densa che si sviluppa nei settori più elevati del Monte Cucco tra 1.340-1.540 m, con dominanza di *Potentilla rigoana* e *Brachypodium genuense*.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo del Monte Cucco

++ *Leucanthemo vulgaris-Bromenalia erecti* Biondi, Ballelli, Allegrezza e Zuccarello 1995

\**Bromion erecti* W. Koch 1926

*Centaureo bracteatae-Brometum erecti* Biondi, Ballelli, Allegrezza, Guitian e Taffetani 1986

Descrizione: questa formazione di prateria mesofila a cotico continuo, si rinviene sui terreni marnoso-arenacei dell'Appennino umbro-marchigiano, dal piano collinare al piano basso montano, in zone precedentemente coltivate e poi abbandonate.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *polyphylla*, *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: gruppo dei monti Cucco, San Vicino, Laga

Rosmarinetea officinalis Rivas-Martinez, Diaz, Prieto, Loidi e Penas 1991

+ Rosmarinetalea officinalis Br.-Bl. ex Molinier 1934

\**Artemisio albae-Saturejion montanae* Allegrezza, Biondi, Formica e Ballelli 1997

*Cephalario leucanthae-Saturejetum montanae* Allegrezza, Biondi, Formica e Ballelli 1997

Descrizione: rappresenta le garighe camefitiche a dominanza di *Satureja montana* e *Cephalaria leucantha* dei settori più caldi dell'Appennino umbro-marchigiano a quote comprese tra 260-750 m.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *rubriflora*

Luoghi: gruppo del Monte San Vicino

*Fumano procumbentis-Stipetum appenninicolae* Taffetani, Zitti e Giannangeli 2004

Descrizione: vegetazione camefitica di impronta mediterranea localizzata nei settori più caldi e acclivi della dorsale calcarea di Cingoli.

Taxa rinvenuti: *A.v.* subsp. *weldeniana*

Luoghi: Dorsale di Cingoli

## INDAGINE MORFOLOGICA

### Materiali e metodi

*Anthyllis vulneraria* L. è una pianta a ciclo annuale, biennale o perenne, con fusto eretto, ascendente o decumbende, generalmente semplice o poco ramificato, con indumento variabile da sericeo a irsuto villosa. La foglia basale è costituita da 1-9 (15) segmenti, con il terminale a volte maggiore. I glomeruli di 15-55 mm di diametro sono globosi e con numerosi fiori (15-25) e la brattea è 3-7(9) palmatopartita. I fiori di 8-20 mm sono pedicellati o sessili e il calice di 5-17 x 2,5-6 mm è ristretto all'apice con 5 denti disuguali, concolore o porpora all'apice e con indumento variabile. Il colore della corolla può essere giallo, rosso, porpora, arancio e bianco; il legume di 3,5-7 x 2-4 mm, ha un peduncolo di 1-4 mm e i semi sono in numero di 1(2) di 3-4 x 2 mm, reniformi.

Anche analizzando le principali flore (Pignatti, 1982; Tutin et al., 1968-1980, 1993) ci si accorge ben presto che le chiavi dicotomiche poggiano su una serie di caratteri diacritici, che come è stato in parte confermato dal presente studio, non sono di grande supporto all'identificazione dei campioni.

I principali caratteri sono:

- tipo di indumento del fusto (peli appressati, patenti, ± patenti, misti)
- tipo e colore dell'indumento del calice (peli appressati, patenti, ± patenti; opachi o lucidi)
- distribuzione delle foglie nel fusto (lungo tutto il fusto o solo nella metà inferiore)
- colore dei fiori (rosa, rosso, porpora, giallo, bianco)
- colore del calice (concolore, porpora all'apice)
- forma delle foglie cauline inferiori e superiori (equifoliate o inequifoliate)

Considerando la complessità dei caratteri necessari per l'attribuzione ai diversi taxa, l'assegnazione a una determinata sottospecie risulta in genere difficoltosa. In particolar modo, in sede di revisione alcuni campioni provenienti dalla Maiella e determinati come *A. v.* subsp. *maura* sono risultati essere meglio attribuiti alla sottospecie *weldeniana*, mentre per numerosi campioni identificati inizialmente come *A. v.* subsp. *rubriflora*, rimane l'incertezza dell'assegnazione, a causa dei numerosi caratteri che si sovrappongono a quelli di *A. v.* subsp. *wel-*

*deniana*, come le foglie cauline inferiori in genere equifoliate o subequifoliate (carattere distintivo in *weldeniana*) e il calice della medesima lunghezza.

Lo scopo di questa indagine è stato quello di valutare la fondatezza dell'attuale quadro, limitatamente ai taxa indagati, della loro distribuzione e dell'effettiva presenza nell'area indagata e inoltre di analizzare in dettaglio i caratteri morfologici su cui la distinzione tassonomica poggia, per valutarne il loro potere diagnostico. A tal proposito l'analisi morfologica è stata realizzata su un campione totale di 85 individui ripartiti in sette gruppi interspecifici; il medesimo set di accessioni è stato impiegato anche per la successiva analisi molecolare.

I caratteri analizzati, per un totale di 43 (di cui 24 quantitativi e 19 qualitativi), sono stati desunti dalle principali Flore (Flora d'Italia e Flora europaea), da precedenti studi tassonomici (Benedí, 1998) e morfologici (Cagiotti *et al.*, 1990) e dalle considerazioni personali scaturite dall'osservazione diretta dei campioni. Al fine di ottenere dei dati quanto più omogenei possibile, tutte le osservazioni sono state riferite sempre all'asse (scapo) centrale della pianta, qualora essa fosse dotata di più culmi; per ogni carattere, sono state misurate quattro repliche per individuo e la media è stata utilizzata per le successive elaborazioni statistiche. I dati quantitativi sono stati trasformati in classi di frequenza basandosi sulle distanze di unità di deviazione standard dal valore medio; i dati qualitativi sono stati anch'essi convertiti in classi numeriche.

L'elaborazione statistica della matrice dei 43 descrittori, precedentemente trasformati e standardizzati, è stata effettuata con il software NTSYS pc, version 2.02i, (C) (1986-1998); l'analisi cluster è stata basata su una matrice di distanza Euclidea e il dendrogramma è stato ottenuto mediante algoritmo cluster UPGMA.

Per ciascun carattere analizzato si espone una breve descrizione e limitatamente a quelli qualitativi si riportano i valori medi (M) e di deviazione standard (Dev.st.) calcolati.

## Caratteri qualitativi

Ciclo biologico (annuale, bienne, perenne): in genere soltanto la subsp. *pulchella* può essere considerata una pianta annuale o al massimo bienne, ma mai perenne, come invece lo sono le altre entità.

Portamento (eretto, ascendente, decombente, prostrato): i portamenti eretto e ascendente sono quelli più frequenti e sono fortemente influenzati dal gradiente altitudinale, pertanto nello stesso ambiente è possibile rinvenire gli stessi taxa con un portamento eretto o ascendente alle quote inferiori e progressivamente sempre più prostrato al suolo all'aumentare dell'altezza. Alle quote maggiori possono anche verificarsi casi di piante completamente schiacciate al suolo con culmi disposti a raggio (osservata al Monte Cucco 1.300 m; Maiella 1.600 m; Monte Porche 2.100 m).

Indumento nella parte inferiore e superiore del culmo (peli appressati, peli appressati misti a peli patenti, peli patenti): l'indumento del culmo mostra un'elevata variabilità tra la parte inferiore del culmo e quella superiore e le forme più comuni sono quelle che presentano un indumento di tipo misto; tipica è la pelosità patente e irsuta che contraddistingue *polyphylla* e i morfotipi di *weldeniana* che si rinvencono alle quote maggiori (> 1.000 m presso Monte Cucco, Maiella, Sibillini, Nerone, Catria, Gioco del Pallone) come risposta alle avverse condizioni climatiche. Il carattere "solo peli patenti" non è mai stato rinvenuto, mentre più frequente è l'osservazione del caso "solo peli appressati" soprattutto in *pulchella*.

Culmi (semplici o ramificati): la tipologia "culmo non ramificato" è quella maggiormente rappresentata in tutti i taxa, soprattutto in *pulchella*.

Forma del segmento terminale della foglia basale (ellittica, ovale): la forma più comune del segmento basale è di tipo ellittica, ma in alcuni casi può assumere un aspetto ellittico-ovale, caratterizzato da una maggiore larghezza e una riduzione della lunghezza.

Indumento della pagina inferiore della foglia (peli folti o radi): si tratta di un carattere poco indicativo e legato più alla provenienza geografica che ai taxa.

Distribuzione delle foglie nel fusto (nella metà inferiore o in tutto il fusto): si tratta di un carattere poco rappresentativo e variabile, ma nonostante ciò viene considerato discriminante. Le osservazioni condotte hanno dimostrato la mancanza di un'attinenza univoca tra tale criterio di classificazione e il relativo taxon, per tanto, contrariamente a quanto riportato nelle Flore, individui di *pulchella* e *polyphylla* possono presentarsi anche con foglie distribuite in tutto il fusto e viceversa, esemplari di *weldeniana* e *rubriflora* possono mostrare una distribuzione fogliare in tutto il fusto.

Posizione dei capolini sul fusto (terminale, sub-terminale, fino a metà fusto): per tutti i taxa, le posizioni più frequenti dei capolini sono quelle terminale e sub-terminale e soltanto *pulchella* evidenzia una maggior frequenza di capolini in posizione terminale.

Lunghezza brattea dei capolini rispetto il calice (<, <, >, >): si tratta di un carattere abbastanza costante, utile per evidenziare differenze tra popolazioni diverse (Cagiotti et al., 1990). In *pulchella* e *polyphylla* la lunghezza delle brattee è tipicamente uguale o superiore al calice, mentre in *rubriflora* e *weldeniana* è più variabile ma comunque inferiore o al massimo uguale a quella del calice.

Colore del fiore (concolore, variegato): la corolla (ali e vessillo) può mostrare un'ampia gamma di colorazioni comprese tra il bianco, rosa pallido, giallo-arancio, rosso e porpora, tuttavia, proprio a causa della sua grande eterogeneità, non può essere considerato un carattere prioritario come è stato ritenuto in passato da vari autori (Beck, 1896; Sagorski, 1909) ma può soltanto fornire informazioni ausiliarie o orientative per l'identificazione di un taxon (Benedí, 1998). Soltanto *pulchella* nella maggior parte delle osservazioni condotte, sembra mantenere costante il colore della corolla rosso mentre in tutti gli altri casi, soprattutto in

*weldeniana*, possiamo trovare individui dalle colorazioni più varie (corolla con colore rosso, giallo o rosea, corolla variegata rossa e gialla, gialla con screziature o venature rosse, biancastra con venature rosse o senza). Dal punto di vista fenologico è possibile osservare una certa scalarità nella fioritura, sia nell'ambito della stessa pianta che tra gli individui della stessa popolazione, con capolini portanti fiori ormai già caduti e altri nello stadio iniziale dell'antesi; ulteriori differenze possono essere osservate anche tra gruppi diversi come *weldeniana* e *pulchella*, dove in genere la seconda denota una fioritura più anticipata della prima.

Colore calice (concolore, rosso all'apice, rosso per metà): generalmente è un carattere poco costante e varia anche nell'ambito degli stessi individui. Nella maggior parte dei casi *pulchella* mostra un calice rosso all'apice, *polyphylla* un calice concolore, mentre *weldeniana* e *rubriflora* possono presentare tutte le tipologie sopra elencate.

Colore indumento del calice (lucido, opaco): le chiavi tassonomiche considerano questo carattere di fondamentale importanza nella determinazioni dei principali gruppi, tuttavia la sua identificazione risulta essere assai difficoltosa e improbabile, scaturendo l'insorgenza di dubbi e confusione. Stando alle osservazioni, si può ritenere che soltanto in *polyphylla* la sua individuazione risulta essere relativamente agevole (indumento opaco), mentre in tutti gli altri casi è necessario un confronto accurato con quegli individui in cui la distinzione risulti netta.

Tipo di indumento calice (patente, sub-patente, appressato): si tratta di un carattere importante ai fini della discriminazione tra gruppi, ma assai improbabile da identificare. Attenendosi alle chiavi dicotomiche delle Flore, il carattere "peli totalmente appressati" è stato rinvenuto in un solo campione di *weldeniana* proveniente dai Monti del Furlo, mentre in tutti gli altri casi non esiste mai una stretta corrispondenza tra la descrizione e il carattere osservato. In tutti gli esami condotti la situazione più frequente è quella rappresentata da peli patenti o sub-patenti alla base del calice, sostituiti progressivamente verso l'apice da un indumento appressato. Generalmente la sottospecie *polyphylla* si caratterizza bene dalle altre per il caratteristico calice rivestito da folti peli patenti e irsuti di aspetto opaco.

Indumento del legume (assente o presente): è un carattere poco rilevante in quanto generalmente assente in tutti i taxa, ma quando presente è possibile osservare sulla superficie del legume una leggera peluria o dei peli isolati. In particolare è stato osservato su diversi individui di *polyphylla* e alcuni di *pulchella*.

Disposizione dei segmenti della foglia inferiore e superiore (aperti, semi-chiusi): gli apici dei segmenti delle foglie possono essere rivolti verso l'esterno (aperti) oppure verso l'alto (semi-chiusi), tuttavia si tratta di un carattere poco rilevante in quanto nella maggior parte dei casi predomina la tipologia di segmenti "aperti", senza particolari distinzioni tra popolazioni.

Forma della foglia caulina inferiore e superiore (equifoliata, sub-equifoliata, inequifoliata): considerando le foglie cauline inferiori, la forma è un carattere abbastanza indicativo in *polyphylla* e *pulchella*, nelle quali è ben evidente la

dimensione maggiore del segmento apicale rispetto ai laterali. Anche in *rubriflora* possono essere presenti foglie inequifoliate, ma in questo caso il carattere è meno marcato e costante rispetto ai precedenti taxa, mentre *weldeniana* presenta tipicamente foglie equifoliate, anche se non mancano delle eccezioni. Per quanto riguarda le foglie cauline superiori la forma più comune è quella equifoliata, ma in *polyphylla* possono essere osservate anche foglie inequifoliate.

### Caratteri quantitativi

Altezza delle piante ( $M = 24$ ; Dev. st. = 10; cm): tra tutti i caratteri quantitativi analizzati, l'altezza è quella maggiormente influenzata dal fattore altitudine, diminuendo all'aumentare della quota ( $R^2 = 0,2$ ) e varia in un intervallo compreso tra pochi cm (*weldeniana*) fino al mezzo metro (*maura*). In particolare i campioni di *weldeniana* sono dotati di una grandissima variabilità e possono presentarsi con caule compresso e schiacciato al suolo in prossimità delle quote maggiori (al Monte Cucco 1.300 m; Maiella 1.600 m; Monte Porche 2100 m), mentre possono superare i 40 cm di altezza alle quote minori in presenza di terreni più profondi (Poggio Alto-Monte Cucco, 750-800 m). Tra gli altri taxa, *polyphylla* è generalmente molto ben sviluppata con altezze comprese tra 20 e 40 cm.

Numero assi caulinari ( $M = 7$ ; Dev. st. = 5): *pulchella* e *polyphylla* si contraddistinguono per avere uno o pochi assi caulinari per pianta, *weldeniana* invece può presentare anche oltre 30 culmi per pianta (Monte Cappella-Dorsale di Cingoli, 700-740 m). Essendo *Anthyllis vulneraria* una specie dalle discrete qualità pabulari (gradita sia ai bovini che agli ovini), l'azione del pascolamento potrebbe essere la causa determinante della produzione di nuovi getti, che secondo Navarro (1996) possono essere considerati come unità semi-autonome per quanto riguarda la distribuzione delle risorse fisiologiche della pianta. Il numero degli assi caulinari e l'altezza della pianta, rappresentano dei caratteri utili per evidenziare differenze tra popolazioni diverse (Cagiotti et al., 1990).

Lunghezza della foglia inferiore ( $M = 6$ ; Dev. st. = 2; cm): è compresa tra 2 e 11 cm, ma la maggior parte degli individui rientrano nell'intervallo tra 4 e 7 cm; in particolare *rubriflora*, *polyphylla* e *maura* denotano le lunghezze maggiori.

Larghezza della foglia inferiore ( $M = 2$ ; Dev. st. = 1; cm): varia da mezzo cm a 4 cm circa ma la maggior parte degli individui rientra nei 2 cm.

Lunghezza della foglia superiore ( $M = 4$ ; Dev. st. = 1; cm): rispetto quella inferiore ha delle dimensioni di poco superiori comprese tra 1,6 e 10 cm e anche in questo caso *polyphylla* e *maura* denotano le lunghezze superiori.

Larghezza della foglia superiore ( $M = 3$ ; Dev. st. = 1; cm): varia da 1 a 6,5 cm e secondo Cagiotti et al., (1990) i parametri di lunghezza e larghezza delle foglie sono utili per evidenziare differenze tra popolazioni diverse.

Diametro del capolini ( $M = 3$ ; Dev. st. = 0,5; cm): il valore medio è di 3 cm ma in *polyphylla* può arrivare fino a 4 cm.

Numero di capolini per pianta ( $M = 12$  ; Dev. st. = 10): è un dato assai variabile soprattutto in *weldenina*, dove è possibile rinvenire individui portanti fino a oltre 30 capolini. Il numero massimo di capolini (66) è stato rinvenuto in un esemplare di *weldenina* (Monte Cappella-Dorsale di Cingoli, 700-740 m) mentre i valori minimi si rinvengono generalmente in *pulchella*, con indici compresi tra 1 e 5. Il carattere in questione risultò essere ovviamente correlato con il numero di culmi per pianta ( $R^2 = 0,78$ ).

Lunghezza del fiore ( $M = 1$ ; Dev. st. = 0,2 ; cm): è compresa tra poco meno di 1 cm (*pulchella*) fino a 2 cm (*polyphylla*) mentre in *weldeniana* e *rubriflora* varia mediamente da 1,3 a 1,6 cm.

Lunghezze del calice ( $M = 1$ ; Dev. st. = 0,2 ; cm): si tratta di un carattere decisamente costante tra i diversi gruppi e le misure effettuate riconducono in maniera abbastanza precisa alle descrizioni delle Flore. In particolare *pulchella* denota una lunghezza inferiore al cm mentre tutti gli altri taxa presentano delle lunghezze superiori. Di regola la lunghezza di 1,2 cm può essere considerata il limite superiore per *weldeniana* e *rubriflora*, mentre in *polyphylla* tale limite si sposta fino a 1,5 cm.

Larghezza del calice ( $M = 0,4$ ; Dev. st. = 0,1; cm): varia da 3 a 5 mm, dove la larghezza minima è rappresentativa per *pulchella* e la massima invece per *polyphylla*. La dimensione del calice rappresenta un carattere utile per evidenziare differenze tra popolazioni diverse (Cagiotti et al., 1990).

Lunghezza penducolo del legume ( $M = 3$ ; Dev. st. = 1; mm): si tratta di un carattere non trattato nelle Flore ma che può servire a completare la descrizione per alcuni taxa. Varia da 1 a 4 mm ed è in stretta relazione con la dimensione del calice, infatti in *pulchella* è compreso tra 1 a 2 mm mentre in tutte le altre entità tra 2 e 4 mm.

Lunghezza del segmento apicale della foglia caulina inferiore ( $M = 3$ ; Dev. st. = 1; cm): la dimensione del segmento apicale e della foglia nel suo insieme sono alcuni dei principali caratteri diagnostici per la determinazione dei taxa. Una foglia è inequifoliata quando presenta un segmento apicale molto più sviluppato dei laterali, come nel caso di *maura*, *polyphylla*, *pulchella* e *rubriflora*. Nel caso specifico i valori più elevati (4,5 cm) sono raggiunti da *maura* e *polyphylla*, mentre *weldeniana*, che presenta una tipologia fogliare equifoliata, ha dimensioni molto variabili che superano raramente i 3 cm.

Larghezza del segmento apicale della foglia caulina inferiore ( $M = 1$ ; Dev. st. = 1; cm): questo parametro è debolmente correlato al precedente ( $R^2 = 0,45$ ) e anche in questo caso i valori inferiori sono stati registrati per *weldeniana* (0,4 cm), quelli superiori per *maura*, *polyphylla*, *pulchella* ( $> 2$  cm).

Lunghezza dei segmenti laterali della foglia caulina inferiore ( $M = 1$ ; Dev. st. = 1; cm): nelle tipologie con foglia inequifoliata i segmenti laterali della foglia caulina basale, tendono ad assumere delle dimensioni assai ridotte rispet-

to quello apicale, con valori compresi tra pochi mm fino a qualche cm (come in *polyphylla*, *pulchella* e *rubriflora*); nelle foglie equifoliate invece la differenza tra il segmento apicale e i laterali è molto meno evidente.

Larghezza dei segmenti laterali della foglia caulina inferiore ( $M = 0,5$ ; Dev. st. =  $0,2$ ; cm): è scarsamente correlato al precedente carattere ( $R^2 = 0,21$ ); i valori minimi sono stati registrati per *pulchella*, *rubriflora* e *weldeniana* ( $0,2$  cm), i massimi per *maura* e *weldeniana* ( $1,4$  cm).

Numero medio dei segmenti della foglia caulina inferiore ( $M = 10$ ; Dev. st. =  $6$ ): per i tipi con foglia inequifoliata spesso i segmenti laterali possono essere molto ridotti fino quasi a scomparire, variando da 1 a 9 (*polyphylla*, *pulchella* e *rubriflora*); in *weldeniana* invece, dove la foglia è di tipo equifoliato, il numero di segmenti può arrivare anche a 17.

Lunghezza del segmento apicale della foglia caulina superiore ( $M = 2$ ; Dev. st. =  $1$ ; cm): riflette le caratteristiche enunciate per il carattere n. 13 dove i valori maggiori si registrano per *maura* e *polyphylla* e i minori per *weldeniana*.

Larghezza dei segmenti apicali della foglia caulina superiore ( $M = 1$ ; Dev. st. =  $0,3$ ; cm): è debolmente correlato al precedente carattere ( $R^2 = 0,36$ ); i valori minimi si registrano in *weldeniana* ( $0,3$  cm), i massimi in *polyphylla* e *rubriflora* ( $1,7$  cm).

Lunghezza dei segmenti laterali della foglia caulina superiore ( $M = 2$ ; Dev. st. =  $1$ ; cm): i valori maggiori si registrano per *pulchella* e *polyphylla* dove sono compresi tra  $1,2$  e  $3$  cm, mentre scendono tra  $1$  e  $2$  cm per *weldeniana* e *rubriflora*.

Larghezza dei segmenti laterali della foglia caulina inferiore ( $M = ,4$ ; Dev. st. =  $0,3$ ; cm): risulta essere debolmente correlato al precedente carattere ( $R = 0,56$ ) con valori minimi di  $0,2$  cm in *polyphylla*, *pulchella* e *weldeniana* e massimi di  $1$  cm sempre nei medesimi gruppi.

Numero medio segmenti foglia caulina superiore ( $M = 7$ ; Dev. st. =  $3$ ): contrariamente alle foglie cauline basali, quelle superiori raramente si possono considerare inequifoliate e nella maggior parte dei casi sono costituite da un numero di segmenti compreso tra  $7$  e  $11$ .

## Risultati

Il dendrogramma ottenuto dall'elaborazione statistica dei 43 caratteri, riflette solo in parte la struttura tassonomica dell'attuale sistema di classificazione, risultando essere suddiviso in tre raggruppamenti: due di essi definiscono i taxa *pulchella* e *polyphylla*, mentre il terzo più ampio e indifferenziato, comprende tutti gli individui classificati come *weldeniana* e *rubriflora* insieme ad altri campioni non identificati (Fig. 18).

Tale risultato conferma in parte le conclusioni che possono essere dedotte in maniera empirica dopo un'attenta osservazione dei campioni appenninici del



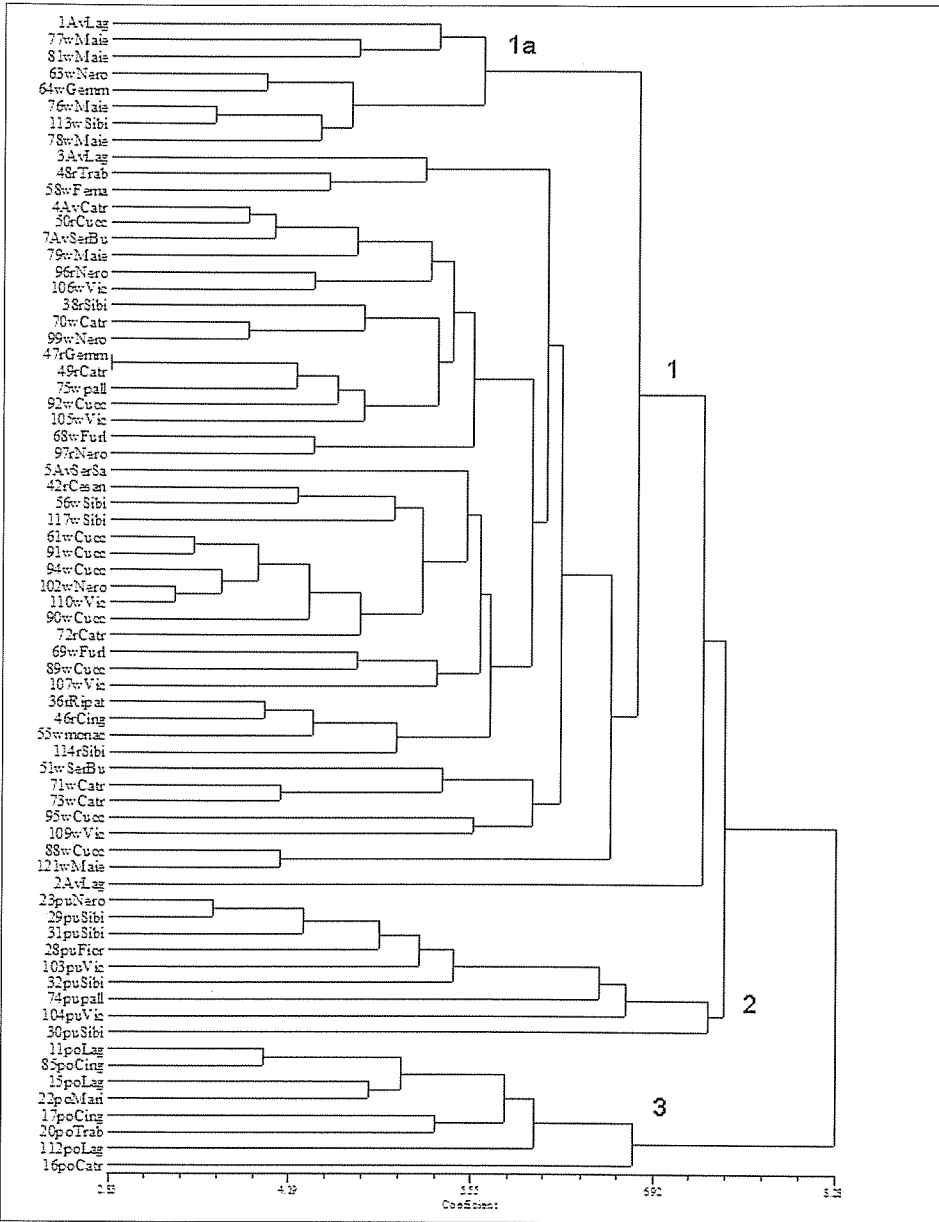


Fig. 18 – Dendrogramma dei caratteri morfologici

gruppo *A.v.*; infatti una volta acquisita un po' di domestichezza con i principali tratti diagnostici e il loro campo di variabilità, risulta abbastanza agevole l'identificazione dei taxa *pulchella* e *polyphylla*, grazie ai loro caratteri univoci e costanti,

mentre resta più problematico il riconoscimento dei taxa afferenti a *weldeniana* e *rubriflora*, per la presenza di caratteri intermedi e di difficile determinazione.

Analizzando in dettaglio la struttura del dendrogramma, all'interno del gruppo 1 è possibile evidenziare la presenza di un sottogruppo debolmente strutturato (1a) che aduna tutte le accessioni di *weldeniana* di alta quota (2.000 m), che si caratterizzano per una serie di caratteri come: presenza di un indumento del culmo generalmente appressato, portamento tendenzialmente prostrato-ascendente, assenza di ramificazioni, foglie distribuite in tutto il fusto, posizione dei capolini prevalentemente apicale, indumento del calice lucido, altezza media degli individui di 10 cm, generale riduzione delle dimensioni di tutti gli organi vegetativi e numero dei capolini inferiore a 10 per pianta.

Tutte le altre accessioni di *weldeniana* si collocano invece insieme agli individui di *rubriflora* e ad altri esemplari di *A.v. s.l.* senza una vera e propria distinzione tra gruppi di popolazioni differenti, a testimonianza della scarsa differenziazione morfologica di questi taxa.

Come supporto alle tradizionali chiavi dicotomiche, è stata redatta una tabella analitica (Tab. IV) in cui si riportano per ciascuna categoria sottospecifica, tutti i caratteri studiati con il relativo campo di variabilità entro cui un taxon può presentarsi, facendo sempre riferimento all'area geografica investigata.

La chiave analitica è il risultato di una completa e lunga ricerca biometria volta a individuare i caratteri dal maggior potere diagnostico e allo stesso tempo meno variabili nell'ambito delle popolazioni indagate, consentendo in tal modo la determinazione del singolo individuo senza necessariamente passare attraverso lo studio di popolazione.

Molto spesso infatti, per la determinazione del singolo individuo è necessario passare attraverso l'osservazione dei caratteri di una intera popolazione, prendendo in rassegna il maggior numero di caratteri diagnostici possibili, in quanto soltanto raramente troveremo una stretta corrispondenza tra la descrizione del taxon e l'esemplare raccolto. Da ciò ne consegue che tanti più sono i caratteri che soddisfano una descrizione, e maggiore sarà la certezza di aver individuato correttamente la presunta sottospecie.

Tra tutti i caratteri esaminati quelli con un buon potere discriminatorio sono:

- la dimensione del calice: risulta abbastanza costante e discrimina molto bene *pulchella* dagli altri taxa;
- la forma della foglia: la foglia equifoliata è tipica di *weldeniana* mentre quella inequifoliata è peculiare di *polypophylla* e *pulchella*;
- la forma biologica: generalmente *pulchella* si rinviene nella forma annuale, mentre le altre possono essere considerate perenni;
- l'indumento del fusto: abbastanza indicativo in *pulchella* (appressato) e in *polyphylla* (patente) ma molto variabile in *weldeniana* e *rubriflora*.

Tab. IV – Caratteri utili per il riconoscimento di *A. v.* subsp.

Sottospecie	<i>Pulchella</i>	<i>polyphylla</i>	<i>weldeniana</i>	<i>rubriflora</i>
Forma biologica	annuale-biennale	perenne	perenne	perenne
Portamento	eretto, ascendente	eretto, ascendente	eretto, ascendente	eretto
Indumento culmo parte inf.	appressato	patente e folto	appressato, patente e folto	appressato, patente e folto
Indumento culmo parte sup	appressato	appressato	appressato	appressato
Culmi semplici o ramificati	semplici	ramificati	semplici	ramificati
Distribuzione foglie nel fusto	tutto il fusto	tutto il fusto	metà inf. fusto/tutto il fusto	metà inf. fusto/tutto il fusto
Posizione dei capolini	terminali/sub-terminali	terminali/sub-terminali	terminali/metà fusto	terminali/sub-terminali
Lung. brattea capolini	maggiore	maggiore o uguale	minore o uguale	minore o uguale
Colore del vessillo	rosso	giallo	giallo, rosso, variegato	giallo, rosso, variegato
Colore calice	rosso all'apice	concolore	concolore, rosso all'apice	concolore, rosso per metà
Colore indumento calice	lucido	opaco	lucido/opaco	lucido/opaco
Tipo indumento calice	appressato/sub-patente	appressato/sub-patente e folto	appressato/sub-patente	appressato/sub-patente e folto
Indumento del legume	no	presente a volte	no	no
Forma fg. cauline inf.	inequifoliata	inequifoliata	equifoliata/sub-equifoliata	sub-equifoliata/inequifoliata
Forma fg. cauline sup.	equifoliata	equifoliata	equifoliata	equifoliata
H pt (cm)	19,8 + 5,5	31,5 + 6,8	21,7 + 8,7	22,8 + 4,1
N° culmi	2,9 + 2,3	6,9 + 4,7	7,6 + 6,2	6,9 + 4,5
Lung. fg. inf. (cm)	5,2 + 1,4	8,4 + 0,9	4,8 + 1,2	5,7 + 0,9
Larg. fg. inf. (cm)	2,1 + 1,0	2,4 + 0,7	1,9 + 0,7	1,4 + 0,6
Lung. fg. sup. (cm)	3,2 + 0,8	5,3 + 0,8	3,3 + 1,0	4,3 + 0,7
Larg. fg. sup. (cm)	2,5 + 0,8	4,7 + 1,0	2,5 + 0,8	3,0 + 0,5
Diametro capolino (cm)	3,1 + 0,6	3,3 + 0,5	3,0 + 0,5	3,1 + 0,3
N° capolini/pt	7,7 + 7,7	12,0 + 9,1	14,0 + 11,3	14,5 + 10,3
Lung. fiore (cm)	0,8 + 0,3	1,6 + 0,2	1,5 + 0,1	1,5 + 0,1
Lung. calice (cm)	0,8 + 0,1	1,2 + 0,1	1,2 + 0,1	1,2 + 0,1
Larg. calice (cm)	0,4 + 0,1	0,5 + 0,05	0,4 + 0,04	0,4 + 0,04
Lung. del penducolo fruttifero (mm)	1,7 + 0,6	3,1 + 0,6	2,9 + 0,4	3,0 + 0,4
Lung. segm. apicali fg. caulina inf. (cm)	2,4 + 0,6	3,8 + 0,8	2,1 + 0,8	2,8 + 0,6
Larg. segm. apicali fg. caulina inf. (cm)	1,3 + 0,4	1,9 + 0,2	1,0 + 0,4	1,3 + 0,3
Lung. segm. laterali fg. caulina inf. (cm)	1,0 + 0,7	1,6 + 0,6	1,1 + 1,0	1,1 + 0,5
Larg. segm. laterali fg. caulina inf. (cm)	0,4 + 0,3	0,6 + 0,2	0,5 + 0,2	0,5 + 0,1
Lung. segm. apicali fg. caulina sup. (cm)	2,0 + 0,5	3,5 + 0,7	1,8 + 0,5	2,2 + 0,4
Larg. segm. apicali fg. caulina sup. (cm)	0,6 + 0,2	0,9 + 0,4	0,5 + 0,2	0,7 + 0,4
Lung. segm. laterali fg. caulina sup. (cm)	1,8 + 0,6	2,6 + 0,4	1,5 + 0,4	1,7 + 0,4
Larg. segm. laterali fg. caulina sup. (cm)	0,5 + 0,2	0,6 + 0,2	0,4 + 0,1	0,4 + 0,1

I caratteri che invece mostrano una scarsa utilità per l'identificazione delle sottospecie sono:

- il colore del fiore: è estremamente variabile sia tra sottospecie diverse che nell'ambito della stessa popolazione;
- il colore del calice: è molto variabile e non sempre rispondente alle descrizioni delle chiavi dicotomiche;
- il colore dell'indumento del calice lucido o opaco: è di difficile determinazione e attribuzione nella maggior parte dei casi;
- il tipo di indumento del calice: raramente si presenta del tutto appressato o patente e la sua determinazione risulta particolarmente problematica in *weldeniana* e *rubriflora* dove generalmente si presenta sub-patente;
- la distribuzione delle foglie nel fusto: raramente le osservazioni coincidono con quanto riportato nelle flore;
- aspetti vegetativi e dimensioni degli organi: risentono dell'influenza altitudinale oltre che della variabilità di popolazione.

In conclusione quindi, per l'area appenninica considerata, le popolazioni attribuite alle sottospecie *polyphylla* e *pulchella* risultano chiaramente identificabili e separabili, grazie alla presenza di alcuni caratteri costanti e univoci che ne permettono una chiara identificazione. Questi caratteri sono: il calice di ridotte dimensioni con indumento patente, abbinato alle lacinie dell'infiorescenza superanti il calice stesso (in *pulchella*); il fusto e il calice con indumento nettamente patente abbinati a foglie fortemente inequifoliate (in *polyphylla*).

Non altrettanto si può dire per le popolazioni di *weldeniana* e *rubriflora* a causa della presenza di caratteri intermedi, come la lunghezza del calice compresa in entrambe tra 1,1 e 1,3 cm, o l'assenza di altri caratteri in *rubriflora*, quali l'indumento del calice con peli totalmente appressati, sostituiti da peli generalmente patenti o al massimo sub-patenti (tipico in *weldeniana*); inoltre la presenza di foglie cauline inferiori inequifoliate, discriminanti per la sottospecie *rubriflora*, è un carattere poco marcato e costante nei campioni indagati, tendente piuttosto alla forma equifoliata o subequifoliata, che è tipica invece della sottospecie *weldeniana*.

Si ritiene pertanto che nell'area studiata debba essere considerata dubbia la presenza della sottospecie *rubriflora*.

#### INDAGINE MOLECOLARE

Le accessioni della precedente indagine biometrica sono state sottoposte anche a un'analisi molecolare, sulla base di una precedente ricerca finalizzata alla ricostruzione filogenetica del genere *Anthyllis* (Nanni et al., 2004).

Gli approcci morfologici e molecolari, se abbinati insieme, possono fornire delle efficaci ipotesi di riorganizzazione tassonomica e recentemente sempre

più studi sono basati sull'applicazione di entrambe i metodi (Allan e Porter, 2000; Fici e Lo Presti, 2003).

La presente ricerca si basa sulle informazioni delle sequenze nucleotidiche degli spaziatori interni trascritti (ITS) del DNA nucleare ribosomiale (rDNA). Si tratta della porzione di DNA nucleare situata nell'organizzatore nucleare, che prende il nome appunto di DNA ribosomiale (rDNA); esso presiede alla formazione del nucleolo e alla sintesi dell'RNA ribosomiale.

Dal punto di vista citogenico, il corredo cromosomico di *A. vulneraria* ( $x = 6$ ) è diverso dal resto del genere ( $x = 7$ ), (Piqueras e Sañudo, 1980).

## Materiali e metodi

Allo scopo di stimare la più ampia variabilità intraspecifica della regione ITS, più individui per sottospecie sono stati esaminati da differenti popolazioni e aree geografiche, per un totale di 104 taxa provenienti da 22 località dell'Appennino centrale così rappresentati: 45 *weldeniana*, 21 *rubriflora*, 15 *polypphylla*, 13 *pulchella*, 2 *vulneraria*, 2 *maura*, 6 indeterminate.

Le accessioni derivano in parte dall'*Herbarium* Brillii-Cattarini *De Plantasalis*, depositato al Centro Ricerche Floristiche Marche (PS) e da nuove collezioni reperite nel corso degli anni 2003-2004, conservate all'*Herbarium Anconitanum* dell'Università Politecnica delle Marche.

Al fine di meglio comprendere le relazioni esistenti tra i taxa intraspecifici del genere *Anthyllis*, al set di partenza sono state aggiunte le sequenze ITS di altre 40 accessioni già oggetto di studio di una precedente ricerca molecolare (Nanni *et al.*, 2004) così suddivise: 13 specie del genere *Anthyllis* (*A. aurea*, *A. barba-jovis*, *A. cornicina*, *A. cytisoides*, *A. hamosa*, *A. hermanniae*, *A. lotoides*, *A. onobychoides*, *A. polycephala*, *A. ramburii*, *A. tejedensis*, *A. terniflora*, *A. tetraphylla*), 13 sottospecie di *A. montana* (di cui 1 *A. m. atropurpurea*, 5 *A. m. jacquini*, 7 *A. m. montana*) e 14 sottospecie di *A. vulneraria* (*A. v. arundana*, *A. v. boscii*, *A. v. carpatica*, *A. v. coccinea*, *A. v. corbierei*, *A. v. lapponica*, *A. v. marittima*, *A. v. maura*, *A. v. reuteri*, 2 *A. vulneraria*, 3 *A. v. weldeniana*). Infine, sono state comparate anche le sequenze di 6 sottospecie di origine baltica (*A. v. arenaria*, *A. v. baltica*, *A. v. coccinea*, *A. v. colorata*, *A. v. marittima*, *A. v. vulneraria*). Come outgroups sono stati scelti: una specie appartenente alle *Robiniae* (*Robinia pseudoacacia* L.), una specie di *Lotus* (*Lotus corniculatus* L.) e una delle *Coronilleae* (*Securigera varia* (DC.) Lassen).

Complessivamente sono state indagate le sequenze ITS di circa 140 individui appartenenti al genere *Anthyllis* (ripartiti tra 14 specie e 17 sottospecie), ma a causa della presenza di DNA degradato contenuto nei campioni d'erbario più vecchi, è stato possibile ottenere la regione ITS completa soltanto per 78 accessioni.

Il DNA genomico è stato isolato dalle foglie dei campioni di erbario seguendo il protocollo fornito da Dneasy Plant Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany); si tratta di un'indagine non distruttiva in quanto sono sufficienti

5 g di materiale secco (l'equivalente di una fogliolina di 1 cm<sup>2</sup> di superficie) per estrarre una quantità di DNA sufficiente alle indagini.

La doppia elica di DNA di ogni regione dell'ITS è stata amplificata mediante la tecnica della PCR (polymerase chain reaction), usando dei primers esterni disegnati per la sequenza di *Vicia faba* (Yocota et al., 1989). La regione dell'ITS1 è stata amplificata con una coppia di primers che si ancorano nella regione 3' della subunità 18S (Jk14: 5'-GGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCG-3') e nella regione 5' dell'unità 5.8S (Jk11: 5'-GCTATGAACCACACTTAACGTCTTA-3'). L'ITS2 è stato amplificato con un paio di primers che si ancorano nella regione 3' del gene 5.8S (Jk27: 5'TTGCAGAATCCCGTGAACCATCG-3') e nella regione 5' del gene 25S (Jk12: 5'-CCAAACAACCCGACTCGCCGACAGC-3').

Particolari difficoltà sono state riscontrate nella determinazione dell'esatto quantitativo dei reagenti che doveva essere adottato nelle reazioni a catena della PCR, trattandosi di DNA relativamente vecchio e degradato e per ogni reagente è stata adottata la seguente concentrazione finale: 10 pmoli per ogni primers, 0.2 mM di dNTPs, 2 mM di MgCl<sub>2</sub>, 1X PCR Buffer 10X, 1.25 U/ul Taq Polymerase, 25 ng/ul DNA genomico, acqua sterile deionizzata fino al volume finale di 50 µl.

La reazione di amplificazione del DNA, che si basa su una serie di cicli ripetuti per un totale di 30 volte a differenti temperature, è stata condotta in un Thermal Cycler Perkin Elmer modello 9600 con le seguenti condizioni: denaturazione iniziale a 94 °C per 3', 30 cicli di denaturazione a 94 °C per 30'', ancoraggio dei primers a 55 °C e 58 °C rispettivamente per ITS1 e ITS2 per l'estensione dei primers a 72 °C per 45'', estensione finale a 72 °C per 15'. La fase di estensione dei primers incrementa di 3'' per ogni sottociclo mentre l'intero processo termina con 15' di incubazione a 10 °C.

Il prodotto della PCR è stato osservato mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2% con buffer 0,5 X trisborate-EDTA (TBE), marcato con Bromuro di etidio. La banda dell'ITS è stata fotografata in un transilluminatore UV e la dimensione del prodotto amplificato è stata stimata usando il Mass Ruler DNAladder. Il DNA è stato purificato mediante successive filtrazioni seguendo il protocollo "DNA and Gel Band Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech, NJ)".

Le sequenze del DNA sono state fatte elaborare da QIAGEN Genomic Services-Sequencing Services-Germany, limitatamente ai primers jk14 per l'ITS1 e jk27 per l'ITS2; per questa ricerca il DNA di tutti i taxa è stato sequenziato in una sola direzione.

Per l'allineamento iniziale delle sequenze di DNA è stato usato il programma ClustalW ver. 1.74 (Thompson *et. al.*, 1994), con le impostazioni di default.

I confini delle regioni ITS1 e ITS2 delle specie del genere *Anthyllis* sono stati definiti da Nanni et al. (2004), mediante comparazione con le sequenze pubblicate di *Vicia faba* (Yokota *et al.*, 1989), di *Anthyllis vulneraria* e *A. tetraphylla*, disponibili in GenBank (Allan e Porter, 2000).

La lunghezza delle sequenze, la loro composizione, il numero dei caratteri variabili e le differenze nucleotidiche tra i taxa, sono stati determinati per la regione dell'ITS1, dell'ITS2 e degli ITS 1 e 2 combinati insieme, mediante il software Mega2 ver. 2.1 (Kumara et al., 2001), opzione "sequence data explorer".

L'analisi filogenetica è stata realizzata usando il software Mega2 ver. 2.1, con il metodo della distanza Neighbour-joining secondo il modello Kimura a due parametri. Il livello di supporto è stato valutato con un'analisi bootstrap con 1.000 repliche.

## Risultati

Le principali caratteristiche della regione ITS di *A. v.* subsp. sono presentate nella Tab. V. Il contenuto di basi G+C varia dal 62,3% (ITS1) al 59,4% (ITS2), con un valore medio del 59,5% per l'ITS completo. La lunghezza della regione ITS1 varia da 161 a 174 pb, mentre la regione ITS2 da 211 a 220 pb. La lunghezza della regione ITS varia da 375 pb (*A. v. maura*) a 386 pb (*A. tetraphylla*). L'intera regione ITS include un totale di 401 siti nucleotidici; di questi 204 sono conservati, 191 sono variabili, con una maggiore variabilità dell'ITS2 (106) rispetto all'ITS1 (95) mentre i siti informativi parsimoniosi sono 149 (di cui 75 per ITS1 e 80 per ITS2). Gli altri siti variabili non vengono utilizzati per la costruzione dell'albero della massima parsimonia, mentre sono considerati siti informativi per il metodo delle distanze. Nel calcolo delle variabili non si è tenuto conto delle inserzioni, pertanto i totali riportati in tabella non trovano una corrispondenza.

Tab. V – Principali caratteristiche delle regioni ITS in *Anthyllis* subsp.

Caratteristiche delle sequenze	Its1	Its2	Its1-2
Lunghezza (pb)	161-174	211-220	375-386
Contenuto medio di G + C (%)	62,3	59,4	59,5
Siti nucleotidici	179	222	401
Siti conservati	81	113	204
Siti variabili	95	106	191
Siti informativi parsimoniosi	75	80	149

L'analisi filogenetica della regione completa ITS ha prodotto il cladogramma in Fig. 19, la cui topologia in linea generale, conferma quella degli alberi ottenuti da Nanni et al. (2004).

Tutte le specie di *Anthyllis* sono raggruppate insieme, a eccezione di tre annuali (*A. tetraphylla*, *A. hamosa* e *A. cornicina*), che fungono da outgroup insieme a *Robinia pseudoacacia*, *Lotus corniculatus* e *Securigera varia*. Il gruppo *Anthyllis* è a sua volta suddiviso in due sottogruppi: il primo aduna tutte le specie perenni del genere (90% di bootstrap), il secondo invece raccoglie insieme tutte le sottospecie di *A. v.* (nodo con valore di bootstrap del 99%) senza una chiara distinzione





annuali (*A. tetraphylla*, *A. hamosa* e *A. cornicina*) sono riunite insieme alle specie di altri generi rappresentativi delle Loteae (*Robinia*, *Lotus* e *Securigerà*).

## CONCLUSIONI

Il solo approccio morfologico su cui sono attualmente fondate le chiavi dicotomiche, non sembra essere sufficiente a definire con chiarezza la tassonomia di gruppi complessi come quello di *Anthyllis vulneraria* L. subsp.

Scopo del presente lavoro è stato quello di apportare una maggiore conoscenza al gruppo *Anthyllis vulneraria* subsp., studiandolo attraverso differenti indagini di tipo ecologico, morfologico e molecolare. L'idea di fondo è quindi quella di concepire non più una tassonomia basata esclusivamente su criteri morfologici, ma di operare secondo un approccio multidisciplinare, che si avvalga della sinergia dei risultati ottenuti da più campi di indagine.

I principali problemi che si incontrano di fronte a uno studio del genere riguardano principalmente l'interpretazione dei risultati che ciascuna indagine fornisce, in quanto ogni studio può essere ritenuto valido dal punto di vista scientifico e procedurale, ma risulta soltanto parzialmente confermato dagli altri.

Lo studio ecologico ha fornito una buona distinzione tra le diverse entità, evidenziano differenziazioni legate soprattutto alla natura del substrato, alla fascia altitudinale e al tipo di habitat. Le accessioni di *weldeniana* si distinguono per avere una grande amplitudine ecologica ma sono debolmente differenziate da *rubriflora*, mentre *pulchella* e *polyphylla* sono maggiormente legate a particolari esigenze ecologiche quali, la preferenza di un litotipo calcareo per la prima e arenaceo per la seconda.

In definitiva, stando a questi risultati tutte e quattro le entità potrebbero essere considerate autonome sotto il profilo ecologico, anche se tra *weldeniana* e *rubriflora* i confini non sono così circoscritti.

L'indagine morfologica ha in parte smentito la vigente struttura tassonomica del gruppo, riconoscendo *weldeniana* e *rubriflora* come un'unica entità e evidenziando inoltre il limitato potere diagnostico di alcuni caratteri, che variano in funzione delle condizioni stazionali e che presentano un'elevata variabilità anche per la possibile presenza di forme intermedie. Un intervallo di variazione troppo ampio tra i caratteri risulta essere poco utile ad apprezzare le distinzioni tra gruppi intraspecifici, consentendo al massimo di cogliere differenze legate agli adattamenti di tipo ambientale. Tale ricerca conferma l'autonomia tassonomica di *polyphylla* e *pulchella*, già evidenziata nella precedente indagine ecologica e decreta l'accorpamento di *weldeniana* e *rubriflora* allo stesso livello gerarchico.

La ricostruzione filogenetica basata sugli ITS suggerisce la presenza di una sola specie estremamente variabile e polimorfa senza quindi riconoscere l'au-

tonomia sistematica delle numerose entità sottospecifiche investigate, in accordo con quanto era già stato dimostrato da Nanni et al. (2004).

I risultati di questa analisi confermano quindi l'unione di *weldeniana* e *rubriflora* in un'unica entità tassonomica, così come era emerso nelle precedenti indagini ecologica e morfologica e vede ampliare tale raggruppamento con l'ingresso di *polyphylla* e *pulchella*. In altri termini non esistono differenziazioni molecolari che consentano di discriminare tra gruppi sottospecifici.

Considerati i limiti del suddetto lavoro e quindi l'opportunità di procedere a un successivo ampliamento dell'areale di studio, all'investigazione di addizionali taxa sottospecifici e all'impiego di ulteriori tecniche molecolari (ad esempio, AFLP), ne consegue l'impossibilità di formulare ipotesi definitive in questa fase della ricerca. I dati raccolti forniscono comunque lo spunto per una revisione tassonomica del gruppo, tenute presenti le differenziazioni ecologiche, morfologiche e molecolari fino a ora emerse.

Da un lato lo studio molecolare, che dovrebbe assicurare una maggiore capacità diagnostica, implica una profonda revisione tassonomica del gruppo, suggerendo una forte semplificazione delle entità sottospecifiche a oggi riconosciute.

Provando invece a valutare tutti risultati ottenuti sotto la stessa lente, è possibile formulare un'ipotesi di revisione meno riduttiva e più vicina a quello che è il sistema tassonomico attualmente riconosciuto in letteratura.

Secondo quest'ottica infatti, rimarrebbe sostanzialmente inalterata l'autonomia sistematica delle sottospecie *polyphylla*, *pulchella* e *weldeniana* mentre risulta dubbia, nell'area considerata, la presenza di *rubriflora*.

## BIBLIOGRAFIA

- AA.VV. 2001 - I Tipi Forestali delle Marche. Inventario e Carta Forestale della Regione Marche, IPLA, Regione Marche, Diffusioni Grafiche, Torino.
- ABBATE G., ALESSANDRINI A., ANZALONE B., BACCHETTA G., BALLELLI S., BANFI E., BARBERIS G., BERNARDO L., BLASI C., BOCCHIERI E., BONACQUISTI S., BOUVET D., BOVIO M., BRULLO S., CONTI F., FOGGI B., GALASSO G., GALLO L., GARBARI F., GIUSSO DEL GALDO G., GOTTSCHLICH G., GUBELLINI L., IBERITE M., IIRITI G., LATTANZI E., LUCCHESI F., MARCHIORI S., MEDAGLI P., MONTACCHINI F., ORSINO F., POLDINI L., PROSSER F., RAFFAELLI M., SANTANGELO A., SCASSELLATI E., SCOPPOLA A., SINISCALCO C., SOLDANO C., SPAMPINATO G., TORNADORE N., VICIANI D. 2005 - An Annotated Checklist of the Italian Vascular Flora. Palombi editore, Roma, 420 pp.
- ALLAN G.J., PORTER J.M. 2000 - Tribal delimitation and phylogenetic relationships of Loteae and Coronilleae (Faboideae: Fabaceae) with special reference to *Lotus*: Evidence from nuclear ribosomal ITS sequences. *Am. J. Bot.*, 87: 1871-1881.
- ALLEGREZZA M., BIONDI E., FORMICA E., BALLELLI S. 1997 - La vegetazione dei settori rupestri calcarei dell'Italia centrale. *Fitosociologia*, 32: 91-120.
- ALLEGREZZA M. 2003 - Vegetazione e paesaggio vegetale della dorsale del Monte San Vicino (Appennino centrale). *Fitosociologia*, 40 (1), suppl. 1: 118 pp.
- BALDONI M., BALLELLI S., BIONDI E., CATORCI A., ORSOMANDO E. 1996 - Studio fitosociologico delle formazioni prative del Monte Subasio (Appennino umbro-marchigiano). *Doc. Phytosociol.*, n.s., 16: 427-448.
- BALLELLI S., BIONDI E. 1982 - Carta della vegetazione del Foglio Pergola. CNR, Collana del programma finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente".
- BALLELLI S., LUCARINI D., PEDROTTI F. 2005 - Catalogo dell'erbario dei Monti Sibillini di Vittorio Marchesoni. *Braun-Blanquetia*, 38: 115-116.
- BECK G. 1896 - Flora von Südbosnien. *Ann. K. K. Nathist. Hofmus.*, 11: 60-67.

- BENEDI C. 1998 - Consideraciones sobre el género *Anthyllis* L. (Loteae-Leguminosae) y su tratamiento en Flora Iberica. An. Jard. Bot. Madr., 56 (2): 279-303.
- BIONDI E., ALLEGREZZA M., BALLELLI S., TAFFETANI F. 2000 - La vegetazione del Corno Grande (2.912 m) nel Gran Sasso d'Italia (Appennino centrale). Fitosociologia, 37 (1): 153-168.
- BIONDI E., BALLELLI S., ALLEGREZZA M., TAFFETANI F., FRATTAROLI R., GUITIAN J., ZUCCARELLO V. 1999 - La vegetazione di Campo Imperatore (Gran Sasso d'Italia). Braun-Blanquetia, 16: 53-117.
- BIONDI E., BALLELLI S., ALLEGREZZA M., ZUCCARELLO V. 1995 - La vegetazione dell'ordine *Brometalia erecti* Br.-Bl. 1936 nell'Appennino (Italia). Fitosociologia, 30: 3-45.
- BIONDI E., TAFFETANI F., ALLEGREZZA M., BALLELLI S. 1990 - La cartografia della vegetazione del Foglio Cagli (Carta d'Italia alla scala 1:50.000, foglio n. 290). Atti Ist. Bot. e Lab. Crit., 9 (serie 7): 51-74.
- CAGIOTTI M.R., POCESCHI N., RANFA A., ROMANO B., FORNACIARI M., MINIATI E. 1990 - Indagine morfologica e fitochimica sul genere *Anthyllis* L. in Italia. In: Annali Facoltà di Agraria, Vol. XLIV. Università degli studi di Perugia.
- CONTI F. 1998 - Flora d'Abruzzo. Elenco sistematico delle piante vascolari presenti in Abruzzo. Ente autonomo Parco Nazionale d'Abruzzo, Stud. Conserv. Nat., 29: 92.
- BIONDI E., PINZI M., GUBELLINI L. 2004 - Vegetazione e paesaggio vegetale del massiccio del Monte Cucco (Appennino Centrale, dorsale umbro-marchigiana). Fitosociologia, 41 (2) suppl. 1: 3-81.
- FICI S., LO PRESTI R.M. 2003 - Variation in the *Senecio aethnensis* group (Asteraceae) along an altitudinal gradient. Plant Biosyst., 137 (3): 305-312.
- FRANCALANCIA C., HRUŠKA K., ORSOMANDO E. 1981 - Ricerche fitosociologiche sui prati-pascolo di Ragnolo (Appennino centrale). In: Studi Tridentini di Scienze Naturali, Acta Biol., 58: 241-253.
- KUMARA S., TAMURA K., JAKOBSEN I.B., NEI M. 2001 - Molecular evolutionary genetics analysis. MEGA version 2.1.
- NANNI L., FERRADINI N., TAFFETANI F., PAPA R. 2004 - Molecular phylogeny of *Anthyllis* ssp. Plant Biol., 6: 454-464.
- NAVARRO L. 1996 - Fruit-set and seed weight variation in *Anthyllis vulneraria* subsp. *vulgaris* (Fabaceae). Plant Syst. Evol., 201 (1-4): 139-148.
- NTSYS pc 2.02i, (C), 1986-1998 - Applied Biostatistics Inc.
- PIGNATTI S. 1982 - Flora d'Italia, Vol. 2: 750-755. Edagricole. Bologna
- PIQUERAS F., SANUDO, 1980 - Anales Inst. Bot. Cavanilles, 35: 395-410; An. Jard. Bot. Madr., 36: 321-337.
- RIVAS MARTINEZ S., SANCHEZ-MATA D., COSTA M. 1999 - North American boreal and Western temperate forest vegetation. Itin. Geobot., 12: 5-316.
- SAGORSKI, 1909 - Über den formenkreis der *Anthyllis vulneraria* L. Allg. Bot. Z. Syst., 15: 7-11, 19-22.
- TAFFETANI F., ZITTI S., GIANNANGELI A. 2004 - Vegetazione e paesaggio vegetale della dorsale di Cingoli (Appennino centrale, Dorsale marchigiana). Fitosociologia, 41 (2) suppl. 1: 83-161.
- TAMMARO F. 1984 - Identification and characterization of *Anthyllis vulneraria* L. var. *nana* Ten. (Leguminosae), an endemic plant of Central Apennines. Ann. Bot. (Roma), 42: 21-28.
- TUTIN T.G., BURGESS N.A., CHATER A.O., EDMONSON J.R., HEYWOOD V.H., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. 1993 - Flora Europaea, Cambridge Univ. Press, Voll. 1-2.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. 1964-80 - Flora Europaea, Cambridge Univ. Press, Voll. 1-5.
- YOCOTA Y., KAWATA T., IIDA Y., KATO A., TANIFUJI S. 1989 - Nucleotide sequences of the 5.8S rRNA gene and internal transcribed spacer regions in carrot and broad bean ribosomal DNA. J. Mol. Evol., 29: 294-301.