

Universitat de Barcelona
Facultat de Biologia
Departament de Biologia Vegetal
Unitat de Botànica



**REVISIÓ MORFOLÒGICA I MOLECULAR DELS TÀXONS
LOBULATS DEL GÈNERE *CALOPLACA* (*TELOSCHISTACEAE*,
LIQUENS), AMB ESPECIAL ÈMFASI EN EL GRUP DE
*C. SAXICOLA***

Memòria presentada per Ester Gaya i Bellés
per optar al grau de Doctor en Ciències Biològiques

Programa de Doctorat de Biologia Vegetal

Bienni 1999-2001

Directors de Tesi:

Dr. Xavier Llimona i Pagès

Dr. Pere Navarro i Rosinés

Barcelona, Octubre de 2005

*'This sensational "Romance of Lichenology", or the unnatural union
between captive algal damsel and tyrant fungal master'*

Crombie 1874



"Lichen fugit" per Michal Skakuj.

AGRAÏMENTS

Després de tant de temps dedicat gairebé exclusivament a la realització d'aquesta tesi és necessari i obligat que agraeixi a un bon nombre de persones que m'han encoratjat en tot moment, m'han ajudat i també m'han ensenyat molt sobre el món dels líquens i de la filogènia. De fet, sense molts d'ells no seria on sóc ara.

En primer lloc vull agrair els meus directors de tesi, Pere Navarro i Xavier Llimona. A en Pere, gràcies per haver-me traspassat tots els teus coneixements sobre taxonomia i morfologia. Tot el que sé t'ho dec a tu, i també moltes, moltes gràcies per haver aguantat estoicament els xàfeces periòdics a que t'he sotmès. Xavier, gràcies per haver estat el meu 'pare espiritual' i per haver-me despertat la passió pels líquens.

Vull fer un esment especial a en Néstor Hladun. Sense la seva inestimable col·laboració no hagués pogut acabar aquesta tesi. Moltes gràcies per haver posat al meu abast el laboratori de molecular de Botànica i per tot l'ajut que m'has donat.

In fact, I haven't had only two supervisors, but three or even four. Thank you very much, François, for having introduced me to the world of lichen phylogeny, for spending so many hours in front of the computer trying to teach this blockhead. I will always admire your passion and dedication to science. My two visits to the Field Museum and to Duke have been basic for my training. Furthermore, without you I would never had met such a bunch of wonderful people. Valerie, my good friend and mentor at the molecular lab. Val, we still have to celebrate it (dancing salsa or hiking?). After so much struggling we finally got it. Life is much easier now...Jola, my adviser for nearly everything. Thanks to be always there. Stefan and Frankie, your jokes and patience helped me to finally get on with computers. Celia and Val H, thanks for your love and friendship, and for thousands of beers and endless talks. Thanks, Megan, Cécile, Heath, Pepe, Robin and many others to make me feel like at home. Thanks Michael, for your artistic contribution. Thank you, Austen Gansley, to make me believe in a dream.

El quart '*director de tes*' potser és dels que ha patit més la meva desesperació davant les dificultats de l'anàlisi filogenètica. Kele, mai podré recompensar-te per tot

l'ajut que m'has facilitat, per ensenyar-me a veure el bosc i no pas l'arbre! per solucionar-me els problemes de formats d'una Macquera poc convençuda. No sé si agrair-te, però, que m'emboliquessis amb la filogènia morfològica. M'ha fet suar molt. Però gràcies per les bones estones passades, pel bon i no tan bon cinema. A aquell que m'anomena 'mujer de la perla', Salvi, li dono les gràcies pel seu gran sentit de l'humor i per ajudar-me a enriure'm de mi mateixa. A tot l'equip de filogènia molecular animal, Marta, Jordi, Mercè, etc., per haver-me adoptat en els vostres seminaris, tot i no acabar d'entendre que feien els "liquens aquells".

Gràcies també a tota la comunitat internacional de liquenòlegs que han col·laborat en l'elaboració d'aquesta tesi. El meu reconeixement més gran per a Claude Roux, mestre de mestres. No deixaré d'admirar el teu vastíssim coneixement liquenològic. Gràcies per haver-me acollit a Marsella i, prometo, que un dia aprendré esperanto. Agraeixo també a tots els herbaris i als Drs. P. van den Boom, J. Etayo i A. Aptroot haver-me proporcionat material imprescindible per al meu estudi.

I don't want to forget the Teloschistologist people, which gave me good ideas and discussions about this exciting group. Thanks, Ulrik Søchting, your contributions have always been of great help. It was funny to collect next to another *Caloplaca* hunter. And thanks, Ulf Arup, for sending me material whenever I asked you.

També vull agrair a tot l'equip de liquenologia de Barcelona i a aquells que han compartit la sala amb mi. Mireia, tu també vas ser la precursora d'aquest embolic en el que m'he ficat. Teresa, la meva segona mare, sense tu els cafès ja no són el mateix; moltes gràcies pels teus consells. Àngels, mai et podré agrair prou que em dónessis la teva confiança i m'incloguessis en el meu primer article de líquens. Esteve, no et torno a esperar a Helsinki! Antonio, no tothom pot dir que ha baixat els Encantats lligat a una corda. Diana, ets una santa, gràcies per haver aguantat l'últim "sprint". Espero que tu i la Sam sapigueu on us heu ficat, els líquens enganxen.

Gràcies Dolores, Lourdes, Pili i la resta de veterans que em vau acollir en la meva primera fase de tesi. Toni, encara tinc un munt de feina per tu, hem de tornar els milers de plecques que et vaig fer demanar...Albert F., gràcies per la teva Immensa paciència i per ser sempre allà. Crec que no acabaré mai amb la següent fornada. Moltes gràcies a tots per fer-me passar tan bones estones i, sobretot, per haver-me "aguantat" i fet riure. Lídia i Miquel, no tinc paraules, sou insuperables. Joan, no ho sembla, però hi ets sempre; gràcies per escoltar les meves interminables queixes

encara que tinguessis “fenya”. Jose, mil, mil, mil gràcies. No se que faria sense tu. Aquestes últimes hores han estat crucials...des d’Edmonton. Aaron, resistirem, no t’atabalis. Hèctor i Àrtur, les vostres brometes al final gairebé em fan gràcia. Mercè, la meva companya de penes taxonòmiques, sempre va bé queixar-se en companyia. Albert Romero “alies La Veu”, Roser O., Laura, Efrem, Gemma, Núria, Estela, i a tothom que em deixo del coffea, moltes gràcies. Diana i Rafa, m’heu salvat la vida! Roser F., molt ànims. Algú ha vist el Joel?

Thank you, Oli, the strange german guy, for your love and sincere friendship, for stand this catalan girl. I’ll miss you a lot. Keep an eye on the Lolitas. Muchas gracias también a Richard, Sofia, Veronique, Dan, el “Búlgaro” Nikolai, y demás que me habéis hecho sentir como una “guiiri” en mi ciudad.

Hi havia una vegada, una colla d’”snobs”...Gràcies nois! per haver-me fet gaudir de tan apassionades discussions polític-científic-pseudointel·lectuals, tot i que hagués de lliutar per fer sentir la meva veu. Miquel, Pere, Rafa, Miquel Àngel i Quique, crec que us hauré de seguir “educant”.

Crec que hi havia algú que tenia més ganes que s’acabés aquesta tesi que no pas jo: Irma i Xell, sou la meva segona família i ho heu fet fantàsticament bé. Quim, Anna, Roger, Maria, Jordi, Núria, Marc, Jaume i tota la resta de biòlegs i no biòlegs que em deixo, finalment he acabat, he tornat...

Gracias Dimitri, por hacerme ver la vida de otro color. Thanks, Neil, for being the English patient, for all you taught me, for the music and for the wine. Beatles will always last...

Vull agrair també a la meva família, el suport incondicional que sempre i en tot moment m’han donat. Gràcies als meus pares per haver-me ensenyat a ser persona, a escollir no sempre el camí més fàcil, i a no ser gens pragmàtica! Gràcies per haver-me deixat fer allò que realment m’agradava i donar-me imaginació i empenta. Al meu germà, Òscar, estic segura que un dia triomfarà.

Per acabar, agraeixo la beca concedida per la Universitat de Barcelona, Personal Investigador-Programa Propi, sense la qual no hauria pogut dur a terme aquest treball.

ÍNDEX

ÍNDEX

CAPÍTOL 1. SITUACIÓ TAXONÒMICA DEL GÈNERE CALOPLACA	1
1. SITUACIÓ TAXONÒMICA DEL GÈNERE CALOPLACA	3
1.2. CALOPLACA, UN GÈNERE DINS DE LES TELOSCHISTACEAE	3
1.2.1. <i>Lecanorales</i> o <i>Teloschistales</i> ?	3
1.2.1.1. Ordre <i>Teloschistales</i> o subordre <i>Teloschistineae</i>	4
1.2.1.2. Les famílies companyes del mateix ordre/subordre: <i>Letrouitiaceae</i> , <i>Fuscideaceae</i>	5
1.2.2. La família <i>Teloschistaceae</i>	6
1.2.2.1. Antecedents històrics de la família	7
1.2.2.2. Gèneres menors pertanyents a les <i>Teloschistaceae</i>	8
1.2.2.3. <i>Fulgensia</i> , <i>Teloschistes</i> i <i>Xanthoria</i> : tres gèneres inclosos en les <i>Teloschistaceae</i> i tradicionalment relacionats amb <i>Caloplaca</i>	11
1.2.3. El gènere <i>Caloplaca</i>	15
1.2.3.1. Antecedents històrics del tractament infragenèric de <i>Caloplaca</i>	16
1.2.3.2. Treballs recents sobre el gènere <i>Caloplaca</i>	21
1.3. EL SUBGÈNERE GASPARRINIA	23
1.3.1. Tractament taxonòmic del subgènere <i>Gasparrinia</i>	23
CAPÍTOL 2. OBJECTIUS GENERALS	31
2. OBJECTIUS GENERALS	33
CAPÍTOL 3. METODOLOGIA GENERAL	35
3. METODOLOGIA GENERAL	37
3.1. INTRODUCCIÓ	37
3.2. ESTUDI MORFOLÒGIC	38
3.2.1. Mostreig de tàxons i delimitació de les unitats d'estudi	38
3.3. RECONSTRUCCIÓ FILOGENÈTICA	41
3.3.1. Filogènia morfològica	42
3.3.2. Filogènia basada en dades moleculars	42
3.3.2.1. Tria del marcador molecular	43
3.3.2.2. Seqüenciació	43
3.3.2.3. Alineament	43
3.3.2.4. Anàlisi de <i>gaps</i>	44
3.3.2.5. Estimació de la filogènia	47
3.3.2.6. Tria d'una aproximació determinada	55
3.3.3. Aproximació combinada	55
3.4. COMPARACIÓ DE LA TAXONOMIA MORFOLÒGICA AMB LA FILOGÈNIA OBTINGUDA	56

CAPÍTOL 4. TAXONOMIA I MORFOLOGIA DEL GRUP C. SAXICOLA	57
4. TAXONOMIA I MORFOLOGIA DEL GRUP C. SAXICOLA	59
4.1. MATERIAL I MÈTODES	59
4.1.1. Bibliografia	59
4.1.2. Material estudiat	59
4.1.3. Estudi i descripció de les mostres	60
4.1.4. Estudi macroscòpic	61
4.1.5. Estudi microscòpic	62
4.1.6. Reactius químics	63
4.1.7. Iconografia	64
4.1.8. Identificació	65
4.2. CARÀCTERS ESTUDIATS EN EL GRUP C. SAXICOLA I ESPÈCIES PROPERES	67
4.2.1. Introducció	67
4.2.2. Tal·lus	68
4.2.2.1. Forma de creixement	68
4.2.2.2. Superfície	69
4.2.2.2.1. Color	69
4.2.2.2.2. Pruïna	70
4.2.2.2.3. Pseudocifel·les	70
4.2.3. Organització de les hifes en falsos teixits	71
4.2.3.1. Introducció	71
4.2.3.2. Caracterització dels tipus de plectènquimes en els líquens	71
4.2.4. Còrtex	75
4.2.5. Medul·la	76
4.2.6. Hipotal·lus (= Línia hipotal·lina)	77
4.2.7. Capa algal	77
4.2.8. Estructures reproductores	78
4.2.8.1. Dispersió vegetativa	78
4.2.8.1.1. Isidis	78
4.2.8.1.2. Soredis	79
4.2.8.1.3. Altres estructures	80
4.2.8.2. Apotecis	80
4.2.8.2.1. Tipus d'apotecis	80
4.2.8.2.2. Parts de l'apotecí	81
4.2.8.3. Ascs	82
4.2.8.4. Ascòspores	85
4.2.8.5. Picnidis	87
4.2.9. Química	88
4.2.10. Ecologia i distribució	89
4.2.10.1. Substrat	90
4.2.10.2. Hàbitat	90

4.2.10.3. Distribució	91
4.3. CATÀLEG COMENTAT DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i> I ESPÈCIES PROPERES	93
4.3.1 Tàxons del grup de <i>C. saxicola</i>	95
<i>Caloplaca arnoldii</i> (Wedd.) Zahlbr.	95
<i>Caloplaca arnoldii</i> sensu Poelt	102
<i>Caloplaca arnoldii</i> sensu Poelt (mostres asiàtiques)	108
<i>Caloplaca biatorina</i> (A. Massal.) J. Steiner	110
<i>Caloplaca clauzadeana</i> Gaya, Nav.-Ros. & Cl. Roux <i>sp. nov.</i> (inèd.)	117
<i>Caloplaca pseudofulgensia</i> Gaya, Nav.-Ros. & Cl. Roux <i>sp. nov.</i> (inèd.)	121
<i>Caloplaca pusilla</i> (A. Massal) Zahlbr.	132
<i>Caloplaca rouxii</i> Gaya, Nav.-Ros. & Cl. Roux <i>nom nov.</i>	142
<i>Caloplaca saxicola</i> (Hoffm.) Nordin	147
<i>Caloplaca schistidii</i> (Anzi) Zahlbr.	155
<i>Caloplaca tegularis</i> sensu auct., non (Ehrh.) Sandst.	158
TÀXON DUBTÓS	
<i>Caloplaca biatorina</i> ssp. <i>gyalechioides</i> (Müll. Arg.) Clauzade & Roux	172
TÀXON A EXCLOURE DEL GRUP DE <i>CALOPLACA SAXICOLA</i>	
<i>Caloplaca saxicola</i> ssp. <i>laceratula</i> (Arnold ex Poelt) Clauzade & Roux	176
4.3.2. Espècies properes estudiades	179
<i>Caloplaca alcarum</i> Poelt	179
GRUP DE <i>CALOPLACA AURANTIA</i>	185
<i>Caloplaca aegaea</i> Sipman	185
<i>Caloplaca aurantia</i> (Pers.) Hellb.	186
<i>Caloplaca flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon	187
<i>Caloplaca thallincola</i> (Wedd.) Du Rietz	188
<i>Caloplaca ignea</i> Arup	194
<i>Caloplaca scopularis</i> (Nyl.) Lettau	197
GRUP DE <i>CALOPLACA LOBULADES</i> AMB <i>SOREDIS</i>	200
<i>Caloplaca cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.	200
<i>Caloplaca obliterans</i> (Nyl.) Blomb. & Forssell	201
<i>Caloplaca proteus</i> Poelt	202
ICONOGRAFIA	207
4.4. ELS CARÀCTERS ESPORALS EN EL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	209
4.4.1. Importància dels caràcters esporals en el grup de <i>C. saxicola</i>	209
4.4.2. Material i mètodes	209
4.4.2.1. Anàlisi de Components Principals (ACP)	210
4.4.2.2. Anàlisi de la variància	210
4.4.2.3. Anàlisi discriminant (AD) o Anàlisi Canònica de la Variància (ACV)	210
4.4.2.4. Test de Tukey/Kramer	211
4.4.3. Resultats i discussió	211

4.4.3.1. Anàlisi de Components Principals (ACP)	212
4.4.3.2. Anàlisi discriminant (ACV)	215
4.4.3.3. Resultats de l'aplicació del Test de Tukey/Kramer	218
4.5. CLAU DELS TÀXONS I MORFOTIPUS DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	223
CAPÍTOL 5. FILOGÈNIA DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	229
5. FILOGÈNIA DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	231
5.1. ANÀLISI FILOGENÈTICA BASADA EN CARÀCTERS MORFOLÒGICS	231
5.1.1. Introducció	231
5.1.2. Material i mètodes	234
5.1.2.1. Mostreig taxonòmic i tria del grup extern	234
5.1.2.2. Mostreig de caràcters	238
5.1.2.3. Conversió dels caràcters continus a discrets per a l'anàlisi	242
5.1.2.4. Problemes amb els polimorfismes i les dades absents (<i>missing data</i>)	246
5.1.2.5. Anàlisis filogenètiques de les dades morfològiques	247
5.1.2.5.1. Recursos informàtics disponibles	247
5.1.2.5.2. Grups de dades	247
5.1.2.5.3. Programari i anàlisis de màxima parsimònia (MP)	247
5.1.3. Resultats	248
5.1.3.1. Llistat de caràcters morfològics	248
5.1.3.2. Anàlisis filogenètiques de les dades morfològiques	258
5.1.3.2.1. Resolució i recolzament del criteri d'optimització	258
5.1.3.2.2. Relacions filogenètiques	258
5.2. ANÀLISI FILOGENÈTICA MOLECULAR	260
5.2.1. Introducció	260
5.2.2. Material i mètodes	262
5.2.2.1. Mostreig taxonòmic i tria del grup extern	262
5.2.2.2. Obtenció de les dades moleculars	263
5.2.2.2.1. Extracció del DNA	264
5.2.2.2.2. Amplificació del DNA	265
5.2.2.2.3. Purificació del producte amplificat	267
5.2.2.2.4. Seqüenciació	268
5.2.2.3. Anàlisis filogenètiques de les dades moleculars	269
5.2.2.3.1. Alineament	269
5.2.2.3.2. Grups de dades	270
5.2.2.3.3. Programari	270
5.2.2.3.4. Anàlisis de màxima parsimònia (MP)	270
5.2.2.3.5. Anàlisis de màxima versemblança o likelihood (ML)	271
5.2.3. Resultats	273
5.2.3.1. Alineaments (taula 5.6)	273

5.2.3.2. Comparació de la resolució i el recolzament entre criteris d'optimització (taula 5.5.)	274
5.2.3.3. Relacions filogenètiques	278
5.3. ANÀLISI FILOGENÈTICA COMBINADA	282
5.3.1. Material i mètodes	282
5.3.1.1. Anàlisis filogenètiques de la matriu combinada	282
5.3.1.1.1. Grups de dades	282
5.3.1.1.2. Anàlisis de màxima parsimònia (MP)	282
5.3.1.1.3. Test de congruència filogenètica entre particions de dades	282
5.3.2. Resultats	285
5.3.2.1. Alineaments (taula 5.6)	285
5.3.2.2. Combinació de dades morfològiques i moleculars	285
5.3.2.3. Comparació de la resolució i el recolzament entre criteris	287
5.3.2.4. Relacions filogenètiques	288
5.3.3. Discussió general de la filogènia del grup <i>C. saxicola</i>	290
5.3.3.1. Contribució relativa de les dades morfològiques i moleculars a l'anàlisi combinada	290
5.3.3.2. Reconeixement filogenètic de les espècies tractades en l'apartat de taxonomia i morfologia	291
5.3.3.3. Comparació de la resolució i el recolzament entre criteris	298
CAPÍTOL 6. FILOGÈNICA MOLECULAR DE LA FAMÍLIA	
<i>TELOSCHISTACEAE</i> I LA SEVA RELACIÓ AMB <i>LETROUITIACEAE</i>	315
6. FILOGÈNICA MOLECULAR DE LA FAMÍLIA <i>TELOSCHISTACEAE</i> I LA SEVA RELACIÓ AMB <i>LETROUITIACEAE</i>	317
6.1. INTRODUCCIÓ	317
6.1.1. Controvèrsia sobre la posició de les <i>Teloschistaceae</i> i antecedents d'estudis moleculars en la família	317
6.1.2. Objectius d'aquest estudi	319
6.2. MATERIAL I MÈTODES	320
6.2.1. Mostreig taxonòmic i tria del grup extern	320
6.2.2. Obtenció de les dades moleculars	321
6.2.3. Anàlisis filogenètiques de les dades moleculars	322
6.2.3.1. Grups de dades, alineament i programari	322
6.2.3.2. Anàlisis de màxima parsimònia (MP)	322
6.2.3.3. Anàlisi Bayesiana (B)	324
6.3 RESULTATS	325
6.3.1. Alineaments	325
6.3.2. Comparació de la resolució i el recolzament entre criteris d'optimització (taula 6.1)	325
6.3.3. Relacions filogenètiques	329

6.4. DISCUSSIÓ GENERAL DE LA FILOGÈNIA DE LA FAMÍLIA <i>TELOSCHISTACEAE</i> I LA SEVA RELACIÓ AMB LES <i>LETROUITIACEAE</i>	333
6.4.1. Relacions filogenètiques dins la família <i>Teloschistaceae</i>	334
6.4.2. Evolució en les <i>Teloschistaceae</i>	348
6.4.3. Conclusions taxonòmiques	349
6.4.4. Comparació dels criteris d'optimització: màxima parsimònia amb caràcters recodificats INAASE i ARC respecte els mètodes bayesians i de màxima parsimònia considerant només regions alineades no ambiguament	351
CAPÍTOL 7. CONCLUSIONS GENERALS	369
7. CONCLUSIONS GENERALS	371
7.1. TAXONOMIA I MORFOLOGIA DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	371
7.2. FILOGÈNIA DEL GRUP DE <i>C. SAXICOLA</i>	373
7.3. FILOGÈNIA DE LA FAMÍLIA <i>TELOSCHISTACEAE</i> I LA SEVA RELACIÓ AMB <i>LETROUITIACEAE</i>	374
CAPÍTOL 8. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES	377
ANNEX 1	421
Phylogenetic study of <i>Fulgensia</i> and allied <i>Caloplaca</i> and <i>Xanthoria</i> species (<i>Teloschistaceae</i> , lichen-forming Ascomycota)	423

'According to the Wall Street Journal, the world has "about 10,000 active taxonomists" – not a great number when you consider how much there is to be recorded'

Bill Bryson, 2003

'It's not a biodiversity crisis, it's a taxonomist crisis!'

Koen Maes, 2003

CAPÍTOL 1

SITUACIÓ TAXONÒMICA DEL GÈNERE *CALOPLACA*

1. SITUACIÓ TAXONÒMICA DEL GÈNERE CALOPLACA

1.2. CALOPLACA, UN GÈNERE DINS DE LES TELOSCHISTACEAE

1.2.1. LECANORALES O TELOSCHISTALES?

Teloschistales D. Hawksw. & O. Eriksson, in *Systema Ascomycetum* 5(1): 183 (1986).

Lecanorales Nannf., in *Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsal.* IV 8(2): 68 (1932).

Actualment, el gènere *Caloplaca* Th. Fr. comparteix la família *Teloschistaceae* (syn. *Caloplacaceae*) amb 11 gèneres més (Eriksson 2005) (Taula 1.1.). La categoria suprafamiliar en la qual s'inclou aquesta família ha estat llargament debatuda, i la seva assignació als ordres *Lecanorales* o *Teloschistales* ha canviat al llarg del temps. Les *Teloschistales* van ser descrites per primera vegada com a ordre independent dins la classe *Lecanoromycetes* per Hawksworth & Eriksson (1986), els quals hi assignaren la família *Teloschistaceae*. Posteriorment, dues famílies més es van incloure en aquest ordre (Eriksson & Hawksworth 1991, Hafellner 1988): *Letrouitiaceae* Bellemère & Hafellner (Hafellner & Bellemère 1981a) i *Fuscideaceae* Hafellner (1984), tot i que Kärnefelt (1989, 1994) mai no va arribar a considerar la família *Fuscideaceae* dins d'aquest grup. A part de les *Teloschistales*, anteriorment, Mattick (1951) ja havia descrit l'ordre *Caloplacales*, en un intent d'agrupar els tàxons amb ascòspores polariloculars, però aquest nom no va ser publicat vàlidament (Art. 36 de l'I.C.B.N.).

Posteriorment, l'ordre *Teloschistales* ha estat inclòs en les *Lecanorales* i resituat al nivell de subordre (Hafellner *et al.* 1994, Rambold *et al.* 1992, Rambold & Triebel 1992). És Tehler (1996) qui definitivament inclou les tres famílies dins *Lecanorales* subordre *Teloschistineae*. De fet, aquesta classificació ja havia estat proposada per Henssen & Jahns (1974) a partir de caràcters ontogènics. Poelt (1973a) també compartia la idea d'incloure les *Teloschistaceae* en l'ordre *Lecanorales*, però en un subordre diferent, *Buelliineae*, establert a partir de diferències en la morfologia i l'anatomia del tal·lus i apotecis.

Eriksson *et al.* (2001, 2003, 2004) van mantenir aquest sistema de classificació dins les *Lecanorales*, tot i que temporalment li donaren categoria de tribu, *Teloschistineae* (Eriksson 1999). A més, la inclusió en l'ordre *Lecanorales* va quedar posteriorment confirmada per dades moleculars (p.ex. Stenroos & DePriest 1998, vegeu revisió a Grube & Winka 2002). Malgrat tot, diversos autors van seguir considerant l'ordre *Teloschistales* com a vàlid (Honegger 2001, Kirk *et al.* 2001). Els darrers treballs de filogènia molecular han tornat a aixecar la polèmica sobre la circumscripció d'aquests ordres. Així, Miadlikowska & Lutzoni (2004) mostren que cap de les seves anàlisis els revela l'ordre *Lecanorales* (segons el concepte d'Eriksson *et al.* 2003, o Tehler 1996) com a monofilètic, i proposen tornar a reconsiderar les *Teloschistales* al nivell d'ordre. Per altra banda, Lumbsch *et al.* (2004) mostren l'ordre *Lecanorales*, incloent les *Teloschistales*, com a un grup monofilètic ben recolzat. També Persoh *et al.* (2004) i Wiklund & Wedin (2003) segueixen acceptant les *Lecanorales* en sentit ampli. Pel que fa a les famílies incloses en les *Teloschistales* o *Teloschistineae*, a part de les *Teloschistaceae*, recentment, les *Fuscideaceae* han estat excloses i deixades com a família de posició incerta per Eriksson (2005), a partir dels resultats moleculars de Reeb *et al.* (2004). Les *Letrouitiaceae* s'han mantingut en el grup i, finalment, les *Megalosporaceae* Vezda ex Hafellner & Bellemère (1981b) han estat proposades provisionalment com a part integrant de les *Teloschistales* per Eriksson (2005). Per a més informació sobre els darrers resultats de filogènia molecular vegeu el capítol 6. Davant d'aquestes propostes contradictòries, en aquest treball, de moment, no hem pres cap decisió definitiva i hem mantingut les dues possibilitats com a vàlides: ordre *Teloschistales* o subordre *Teloschistineae*. Tanmateix, en els subsegüents capítols ens referirem només a l'ordre per una qüestió d'agilitat en el text.

1.2.1.1. ORDRE *TELOSCHISTALES* O SUBORDRE *TELOSCHISTINEAE*

Els tàxons de l'ordre *Teloschistales* o subordre *Teloschistineae*, sense incloure la conflictiva família *Fuscideaceae*, es caracteritzen, en general, per presentar tal·lus d'aspecte molt divers; ascomes de tipus apoteci, de color taronja, taronja vermellós o negrós, i a vegades pruïnós; hamateci amb paràfisis septades, apicalment ramificades i capitades, i ascis elongato-clavats, amb les dues túniques no separables, més o menys engruixits apicalment, amb la part interna de l'àpex i el casquet extern I+ (blau), i un mecanisme de descàrrega no fissitunicat. Les ascòspores són majoritàriament hialines, polariloculars, sovint amb la paret molt engruixida en la zona equatorial, i amb les cèl·lules amb la llum reduïda; només ocasionalment presenten més d'un engruiximent transversal. Els conidiomes són normalment multiloculats o rarament formats per una sola càmera, amb conidiogènesi doliforme a partir de cèl·lules petites (tipus *Xanthoria*, Vobis 1980). Segons Kärnefelt (1989), aquest darrer caràcter,

juntament amb els caràcters dels ascomes i la composició química, reforça la separació entre *Teloschistales* i *Lecanorales*. En general, són de distribució cosmopolita, i prefereixen els substrats bàsics, més o menys eutrofitzats; quan viuen sobre substrats àcids (silicats, escorça) també es veuen afavorits per la disponibilitat de nutrients (pols, ramaderia, ocells marins, etc.).

1.2.1.2. LES FAMÍLIES COMPANYES DEL MATEIX ORDRE/SUBORDRE: *LETROUITIACEAE*, *FUSCIDEACEAE*

La família *Letrouitiaceae* comprèn un únic gènere, *Letrouitia* Hafellner & Bellemère, i unes 15 espècies. Es caracteritza per tenir un tal·lus crustaci força prim, verdós o brunenc, sense pigments antraquinònics, o taronja, amb petites quantitats d'antraquinones; apotecis sense marge tal·lí ben desenvolupat; ascs amb una capa apical externa difusa i un aparell apical intern ben desenvolupat, que es tenyeix de blau difusament, amb descàrrega per mitjà de l'elongació de totes les capes apicals; i ascòspores pluriloculades, muriformes o en hèlix, amb parets internes molt gruixudes. Àmpliament distribuït en regions subtropicals i tropicals, corticícola. El gènere *Letrouitia* va ser separat de les espècies que havien estat prèviament incloses al grup de *Bombyliospora dominguensis* (Hafellner 1981, Hafellner & Bellemère 1981a), principalment basant-se en l'estructura única d'ascs i espores.

La família *Fuscideaceae* inclou uns 6 gèneres i aproximadament unes 40 espècies (sensu Kirk *et al.* 2001). D'aquests gèneres, cinc apareixen amb interrogant a Eriksson *et al.* (2003). El gènere *Fuscidea* V. Wirth & Vezda és el més ric en espècies i es caracteritza principalment per la presència d'un tal·lus crustaci fissurat-areolat, amb apotecis lecideïns, negrosos i dispersos (Oberhollenzer & Wirth 1984, Wirth & Vezda 1972), i ascs amb dues capes a l'apex, una externa i una altra interna, que es tenyeixen de blau. A diferència d'aquest, l'asc tipus *Teloschistes* presenta una capa externa amiloide i un aparell apical rudimentari i no amiloide. Segons Hafellner (1984), però, la semblança de l'asc entre les *Teloschistaceae* i *Fuscideaceae* estableix una relació inequívoca entre ambdues famílies. Però d'acord amb Kärnefelt (1989), com ja s'ha comentat, i malgrat les evidents semblances en l'estructura dels ascs, la família *Fuscideaceae* es caracteritza per l'absència d'antraquinones i per tenir espècies amb ascòspores simples, el·lipsoïdals o reniformes, de vegades amb coloració lleugerament brunenca, de manera que no té un conjunt de caràcters suficient per a poder classificar-la conjuntament amb *Teloschistaceae*. És possible que sigui l'afirmació de Hafellner (1984) la que hagi tingut influència en la tentativa d'incloure les *Fuscideaceae* en les *Teloschistales* per part d'Eriksson & Hawksworth (1985). Per altra banda, Oberhollenzer & Wirth (1984, 1985, 1990) han realitzat una revisió de diverses espècies europees de *Fuscidea*, el gènere més ben delimitat de la família.

La família *Megalosporaceae* inclou 3 gèneres i unes 31 espècies (Kirk *et al.* 2001). Es caracteritza principalment per un tal·lus crustaci verd-groguenc o gris blanquinós, apotecis biatorins de disc bru o negre, himeni I+ (blau) i ascòspores bicel·lulars amb un septe gruixut i parets polars. El tipus d'asc, representat principalment pel gènere *Megalospora* Meyen in Meyen & Flotow, es caracteritza per un tolus I+ (blau), que sovint presenta una cambra ocular difusa. L'estructura de l'asc descrita per Sipman (1983) no es correspon bé amb el tipus *Teloschistes*, però, en canvi, el tipus d'espores descrits per als gèneres *Austroblastenia* i *Megaloblastenia* pot recordar el de l'espora polarilocular (Kärnefelt 1989). Zahlbruckner (1926) va incloure part del gènere *Megaloblastenia* en *Blastenia* (*Caloplacaceae*, vegeu l'apartat d'antecedents històrics de la família *Teloschistaceae*). Segons Kärnefelt (1989), les grans diferències en l'estructura de l'asc no permeten recolzar la ubicació de les *Megalosporaceae* com a grup proper de les *Teloschistales*.

1.2.2. LA FAMÍLIA *TELOSCHISTACEAE*

Teloschistaceae Zahlbr., in Die natürlichen Pflanzenfamilien 1, 1: 251 (1907).

Teloschistaceae és una família de fongs liquenificats més o menys ben delimitada que, en general, havia estat considerada com un bon exemple de grup natural. A banda d'uns quants gèneres amb només una o dues espècies, comprèn, principalment, tres gèneres relativament petits (*Teloschistes*, *Xanthoria* i *Fulgensia*) i un de gran (*Caloplaca*) amb més de 1000 tàxons publicats (Søchting & Lutzoni 2003). Però Kärnefelt (1989) estima que la família *Teloschistaceae* comprèn aproximadament unes 580 espècies, mentre que Hawksworth *et al.* (1995) les redueixen a unes 525 i Kirk *et al.* (2001) a 470.

Entre els taxònoms que treballen amb les *Teloschistaceae* hi ha un cert assentiment pel que fa a l'artificialitat de les delimitacions entre els gèneres que tradicionalment s'han considerat propers com *Caloplaca*, *Fulgensia*, *Teloschistes* i *Xanthoria* i, per tant, és evident la necessitat d'una revisió (p.ex. Gaya *et al.* 2003, Kasalicky *et al.* 2000, Søchting & Lutzoni 2003). En particular, la dubtosa separació entre *Xanthoria* i les *Caloplaca* del subgènere *Gasparrinia* ha estat assenyalada repetidament (Poelt & Hafellner 1980a, Kärnefelt 1989).

El concepte actual de la família *Teloschistaceae* les caracteritza pel fet de presentar tal·lus variats (leprarioides, crustacis, foliacis, fruticulosos); algues del gènere *Trebouxia* o de gèneres propers; ascomes amb forma d'apotecí, en general vistosamenticolorits, sovint amb un marge tal·lí ben desenvolupat, freqüentment amb

antraquinones (K+ porpra); ascs octosporats, ocasionalment amb 12-16 ascòspores, amb una capa externa ben desenvolupada, I+ (blau), estructures internes rudimentàries o absents, i descàrrega esporal per fissura longitudinal (Kärnefelt 1989); les ascòspores són hialines, polariloculars (també anomenades polardiblàstiques), excepcionalment simples, típicament uniseptades o amb 4 lòculs. Un dels caràcters inicialment reconegut com a distintiu va ser el tipus d'ascòspores polariloculars, però amb la inclusió d'altres gèneres, com ara *Apatoplaca*, *Cephalophysis*, *Fulgensia* i *Xanthopeltis*, amb tàxons que presenten ascòspores simples o septades, els principals caràcters que defineixen la família van haver de ser revisats. Santesson (1970a) ha discutit la presència d'antraquinones en relació amb la delimitació de les *Teloschistaceae*. L'absència d'aquestes substàncies es pot considerar com el resultat d'una pèrdua secundària.

1.2.2.1. ANTECEDENTS HISTÒRICS DE LA FAMÍLIA

La família *Teloschistaceae* va ser descrita per Zahlbruckner (1907, 1926) per agrupar els tàxons foliosos i fruticulosos, caracteritzats per ascòspores polariloculars o amb quatre lòculs. En aquesta família, l'autor esmentat inclou els gèneres *Xanthoria*, *Teloschistes* i *Lethariopsis*. Aquest darrer gènere va ser caracteritzat per la presència d'un cordó medullar central. Posteriorment, es va constatar que, en realitat, *Lethariopsis* correspon a un *Neuropogon* (actualment *Usnea*) parasitat per una espècie de *Caloplaca* (Lamb 1948). Zahlbruckner (1926) va descriure també una segona família, *Caloplacaceae*, en la qual va incloure els tàxons crustacis caracteritzats per tenir ascòspores polariloculars, o més rarament, amb tres o quatre lòculs, o amb ascòspores simples. En les *Caloplacaceae* hi va incloure quatre gèneres: *Protoblastenia*, *Bombyliospora*, *Blastenia* i *Caloplaca*.

Moltes espècies de *Bombyliospora* han estat transferides al gènere *Letrouitia* per Hafellner (1981). Actualment, *Protoblastenia* ha passat a *Psoraceae*, i *Bombyliospora* a *Megalosporaceae*, amb el nom de *Megalospora* (Hafellner & Bellemère 1981b). *Blastenia*, inicialment definit pel tipus d'apotecis amb marge propi (Massalongo 1852b, 1853a), es considera sinònim de *Caloplaca*.

Dughi (1952) en el seu tractat sobre l'origen i la significació de l'apoteci lecanorí encara parla de *Caloplacaceae* (*Blastenia* i *Caloplaca*) i *Teloschistaceae* (*Xanthoria* i *Teloschistes*). Malgrat tot, la separació d'aquests gèneres en dues famílies atenent només al tipus de tal·lus ja no va ser acceptada per autors contemporanis de Zahlbruckner. Així, tant Fink (1910) com Malme (1926) agrupen en una mateixa família, *Teloschistaceae*, les dues proposades per Zahlbruckner. D'aquesta manera el gènere *Caloplaca*, inicialment inclòs a la família *Caloplacaceae* (Watson 1953, Zahlbruckner 1926) tenint en compte el tipus de tal·lus crustaci, va passar a

Teloschistaceae. Alborn (1963) també analitza críticament la delimitació entre ambdues famílies, i acaba acceptant només aquesta última.

Alternativament, els gèneres crustacis van ser agrupats dins la família *Blasteniaceae* C.W. Dodge & Baker (1938), incloent *Placodiaceae* Räsänen (1943). El mateix Dodge (1948), però, va utilitzar posteriorment el nom *Blasteniaceae* per referir-se a totes les *Teloschistaceae*, malgrat que aquest canvi de nom era il·legítim. Igualment, Rudolph (1955) va reunir tots els gèneres dins *Blasteniaceae*. I encara Dodge (1971) intenta introduir una altra família, *Xanthoriaceae* (publicada de forma no vàlida), considerant els gèneres *Xanthodactylon*, *Xanthopeltis* i *Xanthoria*. La delimitació d'aquesta família es mostra encara més artificial en el treball de Dodge (1973) de la flora líquènica de l'Antàrtida, en la qual *Xanthoriaceae* comprèn *Xanthoria*, *Lethariopsis* i *Mawsonia*.

El darrer tractament de família, sorprenent pels gèneres que s'hi consideren, és el d'Oxner (1993), el qual, en la seva flora líquenològica d'Ucraïna, inclou en la família *Teloschistaceae* el següents gèneres: *Caloplaca*, *Fulgensia*, *Protoblastenia*, *Pyrrhospora*, *Teloschistes* i *Xanthoria*. També realitza tractaments taxonòmics que difereixen de les propostes més generalitzades actualment. Per exemple considera *Caloplaca elegans* (Link) Th. Fr. en lloc de *Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr., o bé, *C. australis* (Arnold) Zahlbr. i *C. schistidii* (Anzi) Zahlbr. davant de *Fulgensia australis* (Arnold) Poelt i *F. schistidii* (Anzi) Poelt.

Kärnefelt (1989) fa una extensa revisió dels antics sistemes de classificació de la família *Teloschistaceae* i accepta en aquesta deu gèneres: *Apatoplaca*, *Caloplaca*, *Cephalophysia*, *Fulgensia*, *Ioplaca*, *Seirophora*, *Teloschistes*, *Xanthodactylon*, *Xanthopeltis* i *Xanthoria*. Amb pocs canvis, aquesta classificació és la que s'ha mantingut fins l'actualitat (vegeu taula 1.1. per a un recull dels gèneres acceptats en les *Teloschistaceae* segons diferents autors).

1.2.2.2. GÈNERES MENORS PERTANYENTS A LES *TELOSCHISTACEAE*

Apatoplaca Poelt & Hafellner, in Mitt. Bot. München 16: 503 (1980).

Basiònim: *Lecidea oblongula* H. Magn. in Acta Horti Gotoburg. 19, 2: 37 (1952).

Tipus: *Apatoplaca oblongula* (H. Magn.) Poelt & Hafellner

Apatoplaca, un gènere monospecífic de l'oest d'Amèrica del Nord, es caracteritza per tenir un tal·lus de color blanquinós a gris, amb apotecis foscos i ascòspores simples o amb un septe; se l'havia relacionat amb *Caloplaca nivalis* (Koerb.) Th. Fr. pel tipus de septe. Era considerat com un gènere força aïllat dins la família, però Wetmore (1994), finalment, l'ha transferit a *Caloplaca*.

Cephalophysis (Hertel) Kiliias, in *Herzogia* 7(1-2): 183 (1985).

Basiònim: *Lecidea leucospila* Anzi in *Comment. Soc. Crit. Ital.* 1: 156 (1862).

= *Lecidea* subgènere *Cephalophysis* Hertel, in *Beih. Nova Edwigia* 24: 107 (1967).

Tipus: *Cephalophysis leucospila* (Anzi) Kiliias & Scheidegger

Gènere també monospecífic. L'única espècie, *C. leucospila*, creix en substrats calcaris de les regions àrtiques i muntanyoses d'Europa, on és àmpliament distribuïda. El tal·lus és crustaci, blanquinós, i els apotecis, lecideïns, de coloració fosca. Les ascòspores són sempre simples, i presenta conidiomes amb un sol lòcul. Es tracta novament d'un gènere força aïllat. Una hipòtesi que Kiliias (1985) no acaba de formular, i que Kärnefelt (1989) comenta, és la possibilitat que *Cephalophysis* derivés de *Caloplaca*, o bé, que es tractés d'una espècie d'organització més primitiva. També se l'ha relacionat amb el gènere *Fulgensia* pel tipus d'estructura esporal.

Josefpoeltia S.Y. Kondr. & Kärnefelt, in *Bibliotheca Lichenologica* 68: 19 (1997).

Tipus: *Josefpoeltia boliviensis* S.Y. Kondr. & Kärnefelt [= *Josefpoeltia parva* (Räsänen) Frödén & L. Lindblom, in *The Briologist* 106(3): 447 (2003)].

Aquest gènere recorda superficialment el grup *Xanthoria fallax*, però difereix per l'anatomia del còrtex, tipus de rizines i espermacis. Comprèn dues espècies, *J. boliviensis* (espècie tipus) i *J. solediosa* S.Y. Kondr. & Kärnefelt, ambdues d'Amèrica del Sud.

Xanthomendoza S.Y. Kondr. & Kärnefelt, in *Bibliotheca Lichenologica* 68: 19 (1997).

Tipus: *Xanthomendoza mendozae* (Räsänen) S.Y. Kondr. & Kärnefelt

Basiònim: *Xanthoria mendozae* Räsänen in *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 128: 140 (1939).

Gènere descrit inicialment com a monospecífic, amb *X. mendozae*. Recorda a *Ioplaca* i *Xanthopeltis* pel tipus de fixació, però difereix per la morfologia i anatomia; també se la relaciona amb *Teloschistes*. Ha estat citada d'Amèrica del Sud i de Sud-àfrica, i també dels Estats Units i Canadà (Lindblom 1997, amb el nom de *Xanthoria mendozae* Räsänen). Søchting et al. (2002), en una revisió d'aquest gènere a partir de dades morfològiques, anatòmiques, de metabolits secundaris i moleculars, han combinat 16 espècies més de *Xanthoria* a *Xanthomendoza*.

Ioplaca Poelt, in *Khumbu Himal* 6, 3: 443 (1977).

Tipus: *Ioplaca sphalera* Poelt

Es tracta d'un altre gènere monospecífic que, pel seu aspecte general, recorda el d'una *Acarospora* o *Aspicilia*. Presenta un tal·lus areolat, esquamulós o subumbilicat

de color entre groc fosc i taronja groguenc, la seva cara inferior és fosca i, en alguns casos, arriba a desenvolupar un còrtex. Els apotecis són majoritàriament criptolecanorins, de disc taronja a bru fosc, i les ascòspores polariloculars. Creix sobre roca i va ser descobert a zones altes de l'Himalaia. Kärnefelt (1989) posa en dubte si el rang genèric és suficient.

Seiophora Poelt, in Flora, Jena 174: 440 (1983).

Tipus: *Seiophora magara* (Kremp.) Poelt

Inicialment, es tractava d'un gènere monospecífic típicament fruticulós, de coloració blanquinosa o grisenca, sense antraquinones i amb espores polariloculars. Només es coneixia sobre arbustos del desert al nord del Sinaí i al llarg de la costa de Marmàrica a l'oest d'Alexandria. Hillmann (1930), que va estudiar el material recol·lectat per Kotschy el 1855 i descrit per Krempelhuber (1868) com a *Physcia magara* Kremp., dubtava si l'espècie havia de ser tractada dins de *Teloschistes*, o representava un nou gènere de *Teloschistaceae*. Recentment, Frödén & Lassen (2004) han realitzat una rectificació d'aquest gènere. Segons aquests autors, el material tipus, *Physcia magara*, és heterogeni. Es tracta d'una barreja de *Teloschistes villosus* (Ach.) Norman i *Ramalina maciformis* (Delise) Bory. De manera que han tipificat *Physcia magara* a partir del fragment de *T. villosus*, i han transferit les espècies de *Teloschistes* amb pèls multiseriats, espores amb septe curt, hifes del còrtex gruixudes i fortament conglutinades, sense cilis ni rizines, i amb distribució principalment a l'hemisferi nord, al gènere *Seiophora*.

Xanthodactylon P.A. Duvign., in Bull. Jard. Bot. État 16: 260 (1941).

Tipus: *Xanthodactylon flammeum* (L.f.) C.W. Dodge

Gènere monospecífic amb tal·lus erecte i cilíndric, lleugerament pulvinat, sovint perforat, amb lòbuls de color entre groc i taronja. Creix en arbustos al llarg de la costa del sud-oest d'Àfrica. Es distingeix de *Xanthoria* pel tipus de lòbuls, cilíndrics i recoberts per una fina capa cortical. De fet, ambdós gèneres estan estretament relacionats, i representen bàsicament grups morfològics separats (Kärnefelt 1989).

Xanthopeltis R. Sant, in Svensk bot. Tidskr. 43: 560 (1949).

Tipus: *Xanthopeltis rupicola* R. Sant.

Només se'n coneix una espècie, que viu en roques del sud-oest d'Amèrica del Sud. El tal·lus és típicament umbilicat, de color groguenc, i recorda per l'aspecte una petita *Umbilicaria*. Presenta còrtex a les dues cares, i els apotecis es troben, en general, immersos. Les ascòspores són força llargues i fusiformes, més o menys corbades en espiral. Les seves característiques morfològiques i anatòmiques van ser

decrïtes en detall per Santesson (1949), i l'ecologia i distribuci3 han estat discutides per Follmann (1963). Segons Kärnefelt (1989), els seus caràcters morfol3gics semblen indicar que ocupa una posici3 forçça aïllada dins la família.

1.2.2.3. *FULGENSIA*, *TELOSCHISTES* I *XANTHORIA*: TRES GÈNERES INCLOSOS EN LES *TELOSCHISTACEAE* I TRADICIONALMENT RELACIONATS AMB *CALOPLACA*

Fulgensia A. Massal. & De Not., in *Alcuni Gener. Lich.*:10 (1855).

Tipus: *Fulgensia fulgens* (Sw.) Elenkin

Aquest gènere es diferencia per les seves ascòspores simples o amb un septe, de forma el·lipsoïdal, fusiforme, o heteropolar. El tal·lus és esquamulós o placodioide, de coloració groc sofre, taronja groguenc o taronja brunenc; i els lòbuls sovint apareixen més o menys coberts per cristalls d'oxalat càlcic. L'estructura del còrtex és també característica, ja que pràcticament no mostra organització, amb hifes disposades verticalment a la superfície. En certes espècies, i en condicions desfavorables, el tal·lus es cobreix d'esquizidis (fragments esquamulosos de la part superficial del tal·lus, amb el còrtex i la capa algal que se separen de la medul·la i poden ser dispersats per l'impacte de les gotes de pluja). És bastant freqüent que les espècies amb esquizidis es presentin sense fructificar, fet que dificulta la seva identificació, basada principalment en les mides i la forma de les ascòspores.

Algunes espècies com ara *F. australis* (Arnold) Poelt i *F. chanousiae* (Sambo) Poelt divergeixen de la majoria d'espècies del gènere *Fulgensia* per l'hàbit i l'ecologia, i també per les característiques del còrtex. Aquestes espècies s'assemblen més a algunes espècies lobulades de *Caloplaca*. Les ascòspores, fusiformes i amb un septe, són l'únic caràcter que justifica la seva posició dins de *Fulgensia*. Principalment, constitueixen un grup afí amb *Caloplaca aurea* i *C. paulii*, espècies amb característiques intermèdies entre els dos gèneres. Per exemple, aquestes espècies presenten les ascòspores més fusiformes, un tret característic de *Fulgensia*, i amb un enguixament equatorial poc marcat, o bé, són típicament uniseptades (Poelt 1965). *C. paulii*, per l'hàbit i també per l'estructura del còrtex, pertany clarament al grup lobulat de *Caloplaca*, però *C. aurea*, en canvi, morfològicament s'assembla més a *Fulgensia*. A banda de les espècies mencionades, la forma fusiforme de les ascòspores és rara a *Caloplaca*. La presència d'ascòspores polariloculars a *C. paulii* i *C. aurea*, doncs, ha estat més valorada que qualsevol altre caràcter morfològic de cara a establir llurs afinitats genèriques, però si es consideren igualment les ascòspores fusiformes i amb un septe, caldria transferir aquestes dues espècies a *Fulgensia* (Kärnefelt 1989). Poelt (1965) comenta la possibilitat d'incloure *Fulgensia* com a subgènere de *Caloplaca*, amb un tractament semblant al ja fet anteriorment per Zahlbruckner (1926, 1931).

Westberg & Kärnefelt (1998) realitzen una revisió morfològica de *Fulgensia*, en la qual estableixen i divideixen aquest gènere en quatre grups. Recentment han aparegut dos estudis filogenètics moleculars (Kasalicky *et al.* 2000, Gaya *et al.* 2003) que han servit per dilucidar la seva circumscripció. Malgrat tot, actualment els límits genèrics entre *Caloplaca* i *Fulgensia* són encara poc clars, i calen noves dades per tal d'aconseguir una millor diferenciació dels tàxons (vegeu annex I).

Teloschistes Norman, in Nytt Mag. Naturvidensk 7: 228 (1853).

Tipus: *Teloschistes flavicans* (Sw.) Norman

Gènere d'aproximadament unes 30 espècies, que es caracteritza per presentar tal·lus fruticulosos o subfoliosos, erectes o prostrats, sovint laciniats, sempre molt ramificats, K+ (porpra) a tota la superfície o localment, o bé, K-, de color groc o grisós en la maduresa, sovint coberts per un toment més o menys dens, en alguns casos sorediats, o amb fibril·les marginals i pseudocifel·les. Els apotecis són lecanorins, laterals o terminals, amb el disc groc o taronja i amb el marge tal·lí, que pot ser del mateix color del tal·lus i sovint cil·liat. Les ascòspores són també polariloculars o, en algun cas, pluriloculars, amb 3 o 4 lòculs. Àmpliament distribuït en regions tropicals i subtropicals, rarament en regions àrtiques i alpines, corticícola o terrícola. Kärnefelt (1989) separa dos grup morfològics en funció de l'organització dels lòbuls, diferenciant, per una banda, les espècies amb els lòbuls angulosos o cilindràcis i, per altra, les espècies més o menys laciniades, amb els lòbuls parcialment aplanats, amb disposició dorsiventral i principalment amb la cara superior corticada. També destaca, en el mateix treball, la presència de formes intermèdies. Arriba a la conclusió que es tracta de dues línies evolutives divergents, resultat d'una selecció i aïllament molt antics, tot i que entre aquestes dues línies evolutives, la presència o absència i la diferent localització dels pigments antraquinònics no permeten establir una delimitació clara. La seva relació amb els altres gèneres de la família no ha estat encara esbrinada. L'afinitat més clara entre el gènere *Teloschistes* i el gènere *Caloplaca* es troba en el cas de les espècies subfruticoses de *Caloplaca* i *T. scorigenus*, una espècie macaronèsica (Kärnefelt 1989). Respecte al gènere *Xanthoria*, les marcades diferències anatòmiques no permeten l'establiment d'afinitats.

Xanthoria (Fr.) Th. Fr., in Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsal., ser. 3, vol.3: 166 (1860).

Basiònim: *Parmelia* secció *Xanthoria* Fr., in Syst. Orb. Veget., 1: 243 (1825).

Tipus: *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.

La circumscripció taxonòmica de *Xanthoria*, un gènere que inclou al voltant de 30 espècies, s'ha mantingut força estable des que va ser descrit per Fries (1860). Es caracteritza per presentar tal·lus majoritàriament foliacis, amb coloracions entre

grogues i taronja vermelloses. A diferència de *Caloplaca*, *Xanthoria* sempre té còrtex inferior, i el tal·lus acostuma a estar laxament aplicat al substrat, amb hapteris d'aspecte rizinoide, blanquinosos o, ocasionalment, més foscos; però en algun cas, el tal·lus pot estar molt desenganxat del substrat i, aleshores, els hapteris s'agrupen formant un umbó central. Algunes espècies presenten isidis, soredis o pseudocifelles. El còrtex és format per hifes paraplectenquimàtiques visibles. Els apotecis, de color ataronjat o vermellós, tenen el marge tal·lí prominent, de color similar al tal·lus. Les ascòspores, semblants a les de *Caloplaca*, acostumen a ser més petites. Àmpliament distribuït en molts hàbitats de característiques diferents, és corticícola o saxícola. A *Xanthoria* s'observa l'evolució estructural més avançada en les *Teloschistaceae*, ja que la diferenciació anatòmica és molt més complexa que la d'altres gèneres de la família (Kärnefelt 1989).

Xanthoria, igual que *Teloschistes*, és un gènere problemàtic a l'hora de definir afinitats infragenèriques entre espècies. Normalment es distingeix de *Caloplaca* només per la presència d'un còrtex inferior, amb el tal·lus poc aplicat al substrat. Aquest caràcter diagnòstic no és sempre clar, i sovint es posen de manifest afinitats entre *Xanthoria* i algunes espècies lobulades de *Caloplaca* en relació al desenvolupament del còrtex inferior. Per posar un exemple, espècimens de *Xanthoria elegans* (Link) Th. Fr. procedents de regions àrtiques i antàrtiques han estat erròniament identificats com a tàxons d'espècies lobulades de *Caloplaca* (Filson 1984). També alguns exemplars de *X. polycarpa* recorden superficialment espècies del grup de *C. persica*, però amb la presència d'un prim còrtex inferior. Inversament, *C. lobulata* sovint s'ha tractat en les claus de *Xanthoria* (Ozenda & Clauzade 1970, Poelt 1969), encara que no presenti ni còrtex inferior ni rizines (Steiner & Poelt 1982), o fins i tot, ha estat considerada directament com una *Xanthoria* (Egan 1987, Santesson 1984). Per altra banda, s'ha observat un inici de desenvolupament de còrtex inferior en espècies com *C. scopularis* (Nyl.) Lettau i *C. thallicola* (Wedd.) Du Rietz (Poelt & Romauch 1977); mentre que s'ha constatat una reducció del còrtex inferior en el grup de *Xanthoria fallax*. Recentment, Scutari *et al.* (2002) han transferit *X. andina* Räsänen a *C. andina* (Räsänen) Scutari, Söchting & Rosato, posant de manifest la manca d'acord en els caràcters diferencials d'ambdós gèneres. Fins i tot, Poelt & Hafellner (1980a) arriben a qüestionar si *Xanthoria* realment representa un grup uniforme o és simplement una línia evolutiva derivada de *Caloplaca*.

La delimitació de *Xanthoria* entra en conflicte encara amb un altre gènere, *Xanthomendoza*, al qual, com ja s'ha comentat anteriorment, diverses espècies de *Xanthoria* han estat recentment combinades (Söchting *et al.* 2002).

Taula 1.1. Gèneres acceptats a la família *Teloschistaceae* segons diferents autors.

Zahlbruckner (1931 i 1940)*	Ozenda & Clauzade	Eriksson & Hawksworth	Kärnefelt (1989)	Hawksworth et al. (1995)	Eriksson (1999)	Kirk et al. (2001)	Eriksson et al. (2003)	Eriksson (2005)
•	•	Apatoplaça	Apatoplaça	Apatoplaça	Apatoplaça	Apatoplaça	–	–
<i>Blastenia</i> *	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Bombyliospora</i> *	<i>Bombyliospora</i> #	–	–	–	–	–	–	–
<i>Caloplaça</i> *	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>	<i>Caloplaça</i>
•	•	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>	<i>Cephalophysis</i>
•	•	<i>Follmannia</i> ?	–	–	–	–	–	–
•	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>	<i>Fulgensia</i>
•	•	•	•	•	•	•	•	<i>Huea</i>
•	•	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>	<i>loplaca</i>
•	•	•	•	•	<i>Josefpoeltia</i>	<i>Josefpoeltia</i>	<i>Josefpoeltia</i>	<i>Josefpoeltia</i>
•	•	<i>Leproplaca</i>	–	–	–	–	–	–
<i>Protoblastenia</i> *	<i>Protoblastenia</i> §	–	–	–	–	–	–	–
•	•	<i>Seiophora</i>	<i>Seiophora</i>	•	<i>Seiophora</i>	<i>Seiophora</i>	<i>Seiophora</i>	<i>Seiophora</i>
<i>Teloschistes</i> **	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>	<i>Teloschistes</i>
•	•	•	<i>Xanthodactylon</i>	<i>Xanthodactylon</i>	<i>Xanthodactylon</i>	<i>Xanthodactylon</i>	<i>Xanthodactylon</i>	<i>Xanthodactylon</i>
•	•	•	•	•	<i>Xanthomendoza</i>	<i>Xanthomendoza</i>	<i>Xanthomendoza</i>	<i>Xanthomendoza</i>
•	•	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>	<i>Xanthopeltis</i>
<i>Xanthoria</i> **	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>	<i>Xanthoria</i>

* Família *Caloplacaceae* segons Zahlbruckner.** Família *Teloschistaceae* segons Zahlbruckner.# Gènere sinònim de *Megalospora* (*Megalosporaceae*), però moltes de les espècies han estat transferides a *Letrouitia*.§ Actualment inclòs en la família *Psoraceae*.

1.2.3. EL GÈNERE *CALOPLACA*

Caloplaca Th. Fr. nom. cons., in Lich. Arctoi 218 (1860).

Tipus: *Caloplaca cerina* (Ehrh. ex Hedw.) Th. Fr.

El gènere *Caloplaca* comprèn un grup de líquens amb ascòspores incolores i polariloculars, ocasionalment pluriloculars, amb 3 o 4 lòculs, o, més rarament, simples, amb només un lleuger engruiximent de la paret a la zona equatorial. Els tal·lus, crustacis, són d'aspecte variable i, en general, contenen antraquinones, igual que els apotecis. S'han trobat diversos síndromes antraquinònics (grups químics) en aquest gènere, a vegades conjuntament amb d'altres metabolits líquènics (Santesson 1970b, Sørchting 1997, 2001). Els asc i les ascòspores han estat estudiats en detall per Bellemère & Letrouit-Galinou (1982); i els primers també han estat tractats per Honegger (1978). Es troba àmpliament distribuït en hàbitats molt diversos, saxícoles, corticícoles o terrícoles.

Caloplaca es mostra extremadament heterogènia respecte a la morfologia del tal·lus i l'anatomia dels ascomes. Aquesta variació morfològica és difícil de valorar des del punt de vista taxonòmic. Kärnefelt (1989) planteja la qüestió de si aquesta variació és només artificial i conseqüència de la incapacitat per acceptar unitats més petites i més naturals, o, al contrari, si reflecteix simplement taxes evolutives lentes sense cap afinitat infragenèrica òbvia. Per exemple, la gran variabilitat que s'observa en el gruix dels estrats del tal·lus i en la intensitat de la pigmentació pot estar relacionada de manera natural amb condicions ambientals extremes, però en molts d'altres casos, les diferents característiques morfològiques semblen ser més el resultat d'una pressió selectiva molt antiga que de l'adaptació a nous ambients.

Han estat molts els intents per a subdividir el gran gènere *Caloplaca* en unitats taxonòmiques més petites, la qual cosa ha portat a proposar un gran nombre de gèneres o entitats subgenèriques. Aquestes propostes per establir grups separats del gènere han estat detalladament discutides per Kärnefelt (1989). Es tracta de circumscripcions taxonòmiques que es basen majoritàriament en només un únic caràcter i que, normalment no són acceptades en publicacions recents. La falta de congruència entre caràcters ha posat traves a aquests esforços de subdivisió i, sense una alternativa millor, la classificació seguida actualment és molt similar a l'establerta fa més d'un segle.

1.2.3.1. ANTECEDENTS HISTÒRICS DEL TRACTAMENT INFRAGENÈRIC DE *CALOPLACA*

Tal com està circumscrit actualment, el gènere *Caloplaca* es manté com un dels gèneres d'ascomicets liquenitzats amb més nombre d'espècies. Però no sempre ha rebut el mateix tractament taxonòmic ni ha inclòs els mateixos grups d'espècies. Al llarg del temps hom ha proposat la segregació de diversos gèneres a partir de *Caloplaca*, els quals, per diverses raons, no han estat acceptats posteriorment. En l'actualitat, alguns han passat a la categoria de subgènere dins de *Caloplaca*. A continuació en comentem alguns (vegeu taula 1.2. per a un resum dels tractaments infragenèrics).

Blastenia A. Massal. (1852).- Amb *B. ferruginea* (Huds.) A. Massal. designada com a tipus per Clements & Shear (1931), aquest gènere també va ser tractat com a una secció de *Caloplaca* per alguns autors (*Caloplaca* sect. *Blastenia*, Jatta 1910), i es va separar de *Caloplaca* per a incloure les espècies amb apotecis lecideïns. Tanmateix, la transició gradual entre les espècies amb apotecis lecideïns i les d'apotecis lecanorins fa difícil de justificar la separació. La presència de capa algal sota l'apotecí també va ser usada per a distingir entre *Blastenia* i *Caloplaca*, però com indica Magnusson (1944), aquesta separació no és possible. La presència d'algues tan sols correspon als diferents estadis de desenvolupament dins d'una mateixa espècie (Wade 1965). Poelt & Wunder (1967) també argumenten en contra de l'ús genèric de *Blastenia* per als exemplars amb apotecis biatorins o lecideïns ja que, a partir dels estadis intermedis entre apotecis biatorins i lecanorins, assumeixen que el tipus lecanorí s'ha originat a partir del biatorí. Així, doncs, les espècies de *Blastenia* van ser integrades en el gènere *Caloplaca* (p.ex. Alon & Galun 1971, Poelt 1969). Malgrat tot, Dodge (1971) encara inclou a *Blastenia* algunes espècies africanes. Cal indicar que el gènere *Caloplaca* (Fries, 1860) és *nomen conservandum* davant de *Gasparrinia* (Tornabene 1849), *Pyrenodesmia* (Massalongo 1853a) i *Xanthocarpia* (Massalongo 1853b); però no respecte a *Blastenia* (Massalongo 1852b) que, segons el Codi Internacional de Nomenclatura Botànica (Art. 14.5 i 75.1), tindria prioritat. Sembla ser que aquest problema nomenclatural ha estat deixat de banda, donant prioritat als problemes taxonòmics més urgents pendents de ser resolts a *Caloplaca* (Kärnefelt 1989).

Follmannia C.W. Dodge (1966).- Va ser separat a partir d'una espècie efigurada de Xile, caracteritzada principalment per un còrtex amb hifes periclinals i espores uniloculars. Kärnefelt (1989) la sinonimitza amb *C. elegantissima* (Nyl.) Zahlbr.

Gasparrinia Tornab. (1849).- En alguns treballs, apareix també aquest gènere, tractat a part com a un grup evolutiu diferenciat. Però el gran nombre de formes de transició pel que fa a presència de lòbuls, tipus de còrtex i forma d'ascòspores en

altres grups de *Caloplaca*, fa difícil separar *Gasparrinia* en un grup taxonòmic diferenciat.

Gyalolechia A. Massal. (1852a).- Va ser descrit originalment com a gènere a partir de *G. bracteata* (Hoffm.) A. Massal. i *G. aurea* (Schaer.) A. Massal., i caracteritzat per tenir ascòspores fusiformes, bicel·lulars i d'aspecte típicament uniseptat. Més tard, el mateix Massalongo (1853c) canvia la delimitació i hi inclou una sola espècie, *G. nivalis*, fet que pot haver motivat el posterior ús de l'epítet *Gyalolechia* al nivell de subgènere dins les *Caloplaca* (Clauzade & Rondon 1959, Clauzade & Roux 1985). Poelt (1965) afirma que *Gyalolechia* ha de ser conservat en contra de *Caloplaca*. A diferència de Kärnefelt (1989), que proposa conservar *Fulgensia* (Massalongo 1853b) davant de *Gyalolechia*, ja que certes espècies de *Caloplaca*, com *C. aurea*, en són molt properes.

Huea C.W. Dodge & Baker (1938).- Es va caracteritzar i separar dels altres membres de la família *Blasteniaceae* pels apotecis lecideïns i el tal·lus no pigmentat per antraquinones. Si es considera l'estructura de l'exciple, el gènere *Huea* no pot ser separat de *Pyrenodesmia* Massalongo (1853a), nom molt més antic.

Kuettlingeria Trevisan (1857).- Aquest gènere es va separar inicialment de *Blastenia* per les característiques del tal·lus. Segons la descripció de Dodge & Baker (1938), es troba presumiblement dins la variabilitat de *Xanthoria elegans* (Kärnefelt 1989). Actualment es considera un gènere *incertae sedis* (CABI).

Leproplaca (Nyl.) Nyl. ex Hue (1888).- Laundon (1974) i, encara posteriorment, en la flora de líquens de Gran Bretanya i Irlanda (Laundon 1992), en contra del criteri general de la resta d'autors, considera novament *Leproplaca* com a un gènere separat de *Caloplaca*. La presència d'un tal·lus més o menys leprarioide i sense corticar no sembla ser un caràcter suficient per a justificar l'escissió de *C. chrysodeta* i *C. xantholyta* en un gènere a part. A més, aquest caràcter apareix en alguns tàxons d'altres grups de *Caloplaca*.

Mawsonia C.W. Dodge (1948).- Gènere caracteritzat per la presència de tal·lus negrosos, subfruticulosos o prostrats, i apotecis lecideïns. Segons Kärnefelt (1989), el material tipus de *M. harrissoni* C.W. Dodge recorda un líquen de la família *Lichinaceae*, res a veure amb les *Teloschistales*.

Polycauliona Hue (1908).- Va ser també originalment separat de *Caloplaca* per tenir el tal·lus subfruticulós. Es tractava d'un grup no natural que agrupava moltes espècies sense relació. Un grup força remarcable per l'anatomia i la morfologia que comprenia 10 espècies principalment distribuïdes en localitats costaneres d'Amèrica del Nord i del Sud, Àfrica i Australàsia. Poelt & Peltter (1984) revisen aquest grup

sota el nom de *Caloplaca* secció *Thamnoma* (Tuck.) Gyeln. (1933), i arriben a la conclusió que les espècies subfruticulosos, a més caracteritzades per la presència d'antraquinones i per tenir espores polariloculars, malgrat les semblances superficials, no formen un grup monofilètic. De fet, inclouen grups d'espècies que es relacionen amb altres *Caloplaca*, probablement desenvolupades a partir d'espècies del subgènere *Gasparrinia*. Kärnefelt (1989), en la seva anàlisi cladística, les relaciona amb el grup de *Teloschistes capensis* (L.F.) Müll. Arg.

Pyrenodesmia A. Massal. (1853).- Va ser originàriament definit per tenir tal·lus sense antraquinones, apotecis de disc fosc amb un marge tal·lí prim i espores polariloculars. Més tard, el nom ha estat usat en un sentit més ampli, i ha inclòs també espècies d'altres grups. Com ja hem esmentat, *Pyrenodesmia* ha estat tractat pels diferents autors com a gènere (Dodge 1948, Rudolph 1955) i com a subgènere (Clauzade & Roux 1985, Ozenda & Clauzade 1970). Wunder (1974), en el seu estudi de les espècies de *Caloplaca* amb apotecis foscos, no accepta la separació de *Pyrenodesmia* com a un tàxon independent. Segons aquest autor, no constitueix un grup natural ja que els diversos grups d'espècies que s'hi poden discernir estan presumiblement relacionats amb altres espècies provistes d'antraquinones. Però si deixem de banda *C. conversa* (Kremp.) Jatta, el grup sembla ser molt homogeni i un dels més clarament delimitats de les *Caloplaca*, i creiem que podria ser tractat perfectament com un gènere a part.

Els tàxons del gènere *Caloplaca* amb ascòspores proveïdes de 3-4 lòculs s'havien tractat en gèneres a part: *Xanthocarpia* A. Massal. & De Not. in A. Massal. (1853), *Meroplacis* Clem. (1909), *Triophthalmidium* (Müll. Arg.) Gyeln. (1933). Però Hafellner & Poelt (1979) consideren que el nombre de lòculs no és un caràcter suficient per a separar en un gènere aquestes espècies, i que els tàxons pluriloculars deriven d'un grup diferent d'espècies de *Caloplaca*. Aquest grup comprèn 18 espècies, però a la flora europea tenim una única espècie que presenta sempre ascòspores amb quatre lòculs a la maduresa, *C. ochracea* (Schaer.) Flagey (Hafellner & Poelt 1979, Clauzade & Roux 1985). Hi ha també una altra espècie, *Caloplaca cirrochroa*, que presenta ascòspores d'aspecte molt variable, fins i tot, dins d'un mateix asc. Predominen en aquesta les ascòspores amb un sol engruiximent equatorial, però no són rares les que tenen dos engruiximents equatorials i han estat observades en tots els exemplars fructificats estudiats per Navarro-Rosinés & Roux (1994a). Aquesta espècie és un cas de transició entre les *Caloplaca* típiques i les espècies amb més de dos lòculs estudiades per Hafellner & Poelt (1979). De fet, algunes d'aquestes espores pluriloculars tenen septes veritables entre els diferents lòculs, com passa en el cas de *C. ochracea*. Moltes de les espècies d'aquest grup es caracteritzen per un tal·lus reduït i força prim, endolític, no pigmentat, o dèbilment, amb antraquinones.

El darrer i més controvertit tractament sistemàtic és el publicat per Dodge (1971), que inclou 11 gèneres en la família *Blasteniaceae*, dels quals vuit es refereixen a espècies tractades actualment com a *Caloplaca*. Aquests gèneres són: *Blastenia*, *Caloplaca*, *Gasparrinia*, *Huea*, *Kuttlingeria*, *Polycauliona*, *Triophthalmidium* i *Xanthocarpia*. Segons Dodge (1971), *Gasparrinia* i *Kuttlingeria* es caracteritzarien per tenir un estrat cortical inferior ben desenvolupat.

La majoria de gèneres esmentats fins ara no han sobreviscut a les classificacions actuals, i els que ho han fet han estat transferits a la categoria de subgènere. Així, s'han suggerit diversos tractaments infragenèrics, d'entre els quals destaquem els proposats per Wade (1965) i Clauzade & Roux (1985).

Wade (1965), en el seu estudi de les *Caloplaca* de les illes Britàniques, separa quatre seccions: la secció *Caloplaca*, que comprèn la majoria de les espècies caracteritzades per un tal·lus crustaci i apotecis de colors variats, amb marge tal·lí i fotobionts sota l'hipotec; la secció *Triophthalmidium* Zahlbr. que inclou els tàxons de tal·lus crustacis, apotecis sense marge tal·lí i ascòspores amb 4 cèl·lules; la secció *Gasparrinia* (Tornab.) Th. Fr., que es caracteritza per tenir tal·lus placodioides o esquamulosos, corticats, i apotecis amb marge tal·lí; i la secció *Leproplaca* (Nyl.) Wade, on s'inclouen els tàxons no fructificats, amb tal·lus leprarioides. A més, Wade (1965) distingeix diversos grups d'espècies dins de dos d'aquests subgèneres.

Un altre tractament infragenèric de *Caloplaca* que cal prendre en consideració és el proposat en la flora líquènica europea de Clauzade & Roux (1985). S'hi reconeixen sis subgèneres: *Pyrenodesmia* (A. Massal.) Boist., *Leproplaca* (Nyl.) Clauzade & Rondon, *Xanthocarpia* (A. Massal.) Clauzade & Rondon, *Gyalolechia* (A. Massal.) Boist., *Caloplaca* i *Gasparrinia* (Tornab.) Th. Fr.

El subgènere *Pyrenodesmia* (A. Massal.) Boist. agrupa aquelles espècies amb tal·lus blancs, grisos o negrosos, en general K- o K+ (violeta), apotecis foscos amb marge tal·lí escàs o inexistent, i epiteci K- o K+ (violeta). Segons Wunder (1974) aquestes espècies no constitueixen un grup natural, ja que algunes, com ara *C. conversa*, estan relacionades pels pigments antraquinònics amb d'altres espècies.

Les espècies amb tal·lus leprarioide, sense ascocarps, s'han reunit en el subgènere *Leproplaca* (Nyl.) Clauzade & Rondon, que inclou només dues espècies suposadament asexuals (Kärnefelt 1989).

Les espècies que presenten tal·lus no clarament lobulats se separen en tres subgèneres: *Xanthocarpia* (A. Massal.) Clauzade & Rondon, *Gyalolechia* (A. Massal.) Boist. i *Caloplaca*. *Xanthocarpia* aglutina les espècies caracteritzades per tenir ascòspores tetrablàstiques (4 cèl·lules) o amb tres septes simples, tal·lus força prims,

sovint endolítics, no o dèbilment pigmentats per pigments antraquinònics, i apotecis a vegades lleugerament pigmentats. Les espècies amb ascòspores diblàstiques (bicel·lulars), el gruix del gènere, queden repartides en dos subgèneres: *Gyalolechia* i *Caloplaca*. El subgènere *Gyalolechia* reuneix les espècies amb ascòspores amb un engruïment equatorial estret, inferior als 3 µm de gruix. *Caloplaca nivalis*, amb ascòspores allargades, gairebé sense septe, i que normalment creix sobre briòfits (Hansen *et al.* 1987), pertany a aquest grup, però Kärnefelt (1989) proposa la possibilitat de tractar aquesta espècie en una entitat a part. Finalment, el subgènere *Caloplaca* agrupa les espècies caracteritzades per tenir ascòspores amb engruïment equatorial superior a 3 µm de gruix. Aquest últim subgènere, ha estat subdividit en tres grups: el grup de *Caloplaca citrina*, el grup de *C. cerina* i el grup de *C. ferruginea*, els quals no són completament uniformes. Per exemple, en el grup de *C. cerina* s'inclouen també *C. congregiens* (Nyl.) Zahlbr. i *C. grimmiae* (Nyl.) Olivier, espècies que juntament amb *C. phaeothamnus*, Poelt & Kalb (1985) separen en la secció *Coccinodiscus*. També Kärnefelt (1989) proposa separar les tres espècies en un gènere, basant-se en els seus caràcters particulars.

I per últim, els tal·lus clarament lobulats s'agrupen en el subgènere *Gasparrinia* (Torn.) Th. Fr., un subgènere molt ampli, en el qual es reconeixen diversos grups d'espècies que comentarem amb més detall més endavant (vegeu apartat 1.3 d'aquest capítol).

Finalment, d'entre els tractament infragenèrics més recents, a part dels de Wade (1965) i Clauzade & Roux (1985), destaquem el de Hansen *et al.* (1987), en el què subdivideixen les espècies de Groenlàndia en diversos grups: *Sinapispermae*, *Citrinae*, *Nivales*, *Chalybeae*, *Cerinae*, *Ferrugineae*, *Saxicolae*, *Trachyphyllae*, *Pauliae* i *Pyraceae*; i el de Poelt & Hinteregger (1993), on estableixen 21 grups per ubicar les espècies de *Caloplaca* de l'Himalaya.

Taula 1.2. Tractament infragenèric de *Caloplaca*.

Gèneres segregats	Wade 1965	Clauzade & Roux 1985
<i>Blastenia</i> A. Massal. <i>Follmania</i> C.W. Dodge <i>Gasparrinia</i> Tornab. <i>Gyalolechia</i> A. Massal. <i>Huea</i> C.W. Dodge & Baker <i>Kuttlingeria</i> Trevisan <i>Mawsonia</i> C.W. Dodge <i>Polycauliona</i> Hue <i>Pyrenodesmia</i> A. Massal. <i>Xanthocarpia</i> A. Massal. & De Not. <i>Meroplacis</i> Clem. <i>Triophthalmidium</i> (Müll. Arg.) Gyeln.	Secció <i>Caloplaca</i> Secció <i>Gasparrinia</i> Secció <i>Leproplaca</i> Secció <i>Triophthalmidium</i>	Subgènere <i>Caloplaca</i> Subgènere <i>Gasparrinia</i> Subgènere <i>Gyalolechia</i> Subgènere <i>Leproplaca</i> Subgènere <i>Pyrenodesmia</i> Subgènere <i>Xanthocarpia</i>

1.2.3.2. TREBALLS RECENTS SOBRE EL GÈNERE *CALOPLACA*

Com ja s'ha vist, el gènere *Caloplaca* ha estat objecte de diferents estudis, però mai no s'ha monografiat per complet; tan sols ha estat tractat per seccions i, per això, alguns grups romanen encara problemàtics. Malgrat tot, el nombre de treballs és molt extens i no és possible d'enumerar-los tots. Així, doncs, destacarem alguns dels estudis on grups importants de *Caloplaca* han estat tractats.

Troblem que el subgènere *Gasparrinia*, sens dubte el més ben conegut, almenys a Europa, ha estat objecte de diferents estudis. Poelt (1954) realitza una revisió centrada en les espècies del Centre d'Europa, tractant-ne aproximadament una trentena. Kärenlampi (1965) estudia nou espècies de Finlàndia. Nordin (1972) amplia la revisió per al Nord d'Europa i estudia un total de 16 espècies.

El grup de *C. ferruginea* va ser tractat per Magnusson (1944). Les espècies amb ascòspores pluriloculars, com ja s'ha dit, van ser estudiades per Hafellner & Poelt (1979). I les espècies amb apotecis negres van ser revisades per Wunder (1974). Posteriorment, Poelt & Kalb (1985) realitzen un estudi del grup de *C. congregians*. Les espècies isidiades de *Caloplaca* i d'altres *Teloschistaceae* han estat tractades per Kärnefelt (1990). I el complex *C. flavorubescens* a Europa ha estat estudiat per Giralt *et al.* (1992), en un treball en el què descriuen tres noves espècies.

Com a tractaments al nivell de gènere, a Europa trobem una monografia de les Illes Britàniques a Wade (1965) i a Purvis *et al.* (1992); mentre que Laundon (1992) hi aporta algunes espècies noves. Darrerament s'ha actualitzat el coneixement del gènere amb el nou Atlas de Líquens de les illes Britàniques (Coppins & Fletcher 2001). Per a Itàlia, Nimis (1992) detalla en una clau les espècies italianes, i inclou el catàleg florístic de *Caloplaca* al volum de líquens d'Itàlia (Nimis 1993). A Suècia trobem alguns treballs dispersos (Arup 1990, Arup & Ekman 1991). A Dinamarca destaquen els treballs de Søchting (1973, 1999). Com a claus generals disponibles per a Europa existeixen les de Poelt (1969) i Clauzade & Roux (1985).

De l'Europa oriental i àrees asiàtiques, cal assenyalar els estudis de Kondratyuk *et al.* (1996, 1998), Khodosovtsev *et al.* (2002) i Zhurbenko & Søchting (1993). No cal oblidar tampoc el volum dedicat a *Caloplaca*, *Fulgensia* i *Ioplaca* de la flora líquènica de l'Himalaya de Poelt & Hinteregger (1993), ni un treball del gènere a Israel (Alon & Galun 1971), on es descriuen unes 33 espècies.

Les *Caloplaca* de les regions polars mereixen una especial atenció ja, que han estat extensament tractades i se n'han descrit diverses espècies en els treballs de Olech & Søchting (1993), Søchting (1989, 1992a, 1992b, 1994), Søchting & Olech (1995), Søchting & Øvstedal (1992, 1998), Søchting & Tønsberg (1997) i Søchting *et*

al. (1992). A més, Hansen *et al.* (1987) realitzen la monografia del gènere a Groenlàndia, que inclou 43 tàxons i la descripció de tres noves espècies.

Pel que fa a Amèrica del Nord i Amèrica Central, els treballs són escassos. Weber (1989) realitza un petit treball sobre les *Caloplaca* a Califòrnia. Wetmore (1994, 1996, 1999, 2001) i Wetmore & Kärnefelt (1998, 1999) treballen en la revisió del gènere i, concretament, en el seu treball del 1998 estudien la secció *Gasparrinia*. Nimis *et al.* (1994) descriuen una nova espècie dedicada a Wetmore, *C. wetmorei*. Però són les espècies marítime-litorals d'Amèrica del Nord les que han estat tractades amb més detall per Arup (1992a, 1992b, 1993a, 1993b, 1994, 1995a, 1995b, 1997b). Com a treballs de *Caloplaca* de l'hemisferi sud destaquem: Kalb (2001), Kärnefelt (1987, 1988a, 1988b, 2003) i Kärnefelt *et al.* (2002).

Finalment, pel que fa a la península Ibèrica, les dades sobre *Caloplaca* es troben disperses en les diferents flores, i els treballs monogràfics del gènere es redueixen a uns pocs articles. Entre aquests podem destacar les claus d'Egea (1984), per a les espècies saxícoles d'Espanya, i els treballs sobre les diferents espècies calcícoles, principalment mediterrànies, de Navarro-Rosinés & Hladun (1992, 1996), Navarro-Rosinés & Roux (1992, 1993, 1994a, 1994b, 1995) i Navarro-Rosinés *et al.* (1996, 2000a, 2000b, 2001). Les *Caloplaca* epífites a la península Ibèrica han estat tractades per Crespo & Atienza (1989). Renobales (1996) dedica una part important del seu treball sobre líquens calcícoles del nord de la península al gènere *Caloplaca*.

Tot i l'extensa bibliografia a dalt citada, els treballs de filogènia molecular sobre el gènere *Caloplaca* són encara escassos. Trobem únicament l'estudi d'Arup & Grube (1999), els quals publiquen l'anàlisi filogenètica de 17 espècies de *Caloplaca* i tres de *Xanthoria*, per tal de determinar la posició taxonòmica de *Lecanora demissa*. A part d'aquest treball, les relacions filogenètiques al nivell molecular del gènere *Caloplaca* respecte els gèneres *Xanthoria* i *Fulgensia* han estat tractades a Gaya *et al.* (2003) i Söchting & Lutzoni (2003). L'estudi sobre el gènere *Xanthomendoza* (Söchting *et al.* 2002) també inclou algunes espècies de *Caloplaca*. Tanmateix, és evident que manca un estudi molt més exhaustiu, tant de *Caloplaca* com dels gèneres amb els quals comparteix la família *Teloschistaceae*. Per tal d'arribar a una major comprensió de les seves relacions filogenètiques i poder establir un marc filogenètic comparatiu amb la taxonomia existent, calen noves dades moleculars.

1.3. EL SUBGÈNERE *GASPARRINIA*

1.3.1. TRACTAMENTS TAXONÒMICS DEL SUBGÈNERE *GASPARRINIA*

Gasparrinia Tornab., in Lichenogr. Sicula: 27 (1849).

Tipus: *Gasparrinia murorum* (Hoffm.) Tornab. (1849).

Basiònim: *Lichen murorum* Hoffm. (1784).

Quan, en diverses flores i tractaments, es fa referència a *Caloplaca* subgènere *Gasparrinia* normalment es vol designar el grup d'espècies de *Caloplaca* amb tal·lus placodioides (també dit placodiiforme), esquamulós, efigurat (o sia, lobulat), corticat, i, en general, amb antraquinones en el tal·lus i/o apotecis.

Aquest grup va ser descrit per primera vegada per Tornabene (1849), que en la seva descripció original va llistar vuit espècies, de les quals cinc es van considerar més tard que no pertanyien a aquest grup. Les tres restants, que Fries (1871) va referir com a *Caloplaca* secció *Gasparrinia*, eren *C. callopisma* (= *C. aurantia*), *C. murorum* (= *C. saxicola*) i *C. cirrochroa*. Segons Poelt (1954), l'estudi previ més encertat de *Caloplaca* subgènere *Gasparrinia* ha estat el realitzat per Weddell (1876).

Posteriorment, l'ús d'una categoria infragenèrica per a incloure espècies lobulades al marge ha estat acceptat per diversos autors (Clauzade & Roux 1985, Poelt 1969 i Wade 1965). En el cas de Clauzade & Roux (1985), aquests autors subdivideixen el subgènere *Gasparrinia* en 5 grups d'espècies: el grup de *Caloplaca aurantia*, el de *C. aurea*, el de *C. carphinea*, el de *C. persica* i el de *C. saxicola*. Els comentem breument a continuació (vegeu taula 1.3. i taula 1.4. per a un resum dels tractaments sistemàtics rebuts per aquest subgènere):

Grup de *C. aurantia*.- Està format per tres espècies, *C. aurantia* (Pers.) Hellb., *C. flavescens* (Huds.) J.R. Laundon i *C. thallincola* (Wedd.) Du Rietz i es caracteritza principalment per tenir les ascòspores citriformes. Kärnefelt (1989), en una anàlisi cladística, considera el grup de *C. aurantia* com a un grup diferent de la secció *Gasparrinia*. Espècies amb tipus esporals de transició apareixen rarament dins del grup de *C. velana*, morfològicament ben diferenciat de *C. aurantia*. Recentment, Sipman & Raus (2002) han descrit una nova espècie que, per les característiques del tal·lus i forma de les espores, podríem incloure dins d'aquest grup, *C. aegaea* Sipman.

Grup de *C. aurea*. - Com ja hem comentat, les espècies d'aquest grup tenen un engruïment equatorial de les espores no superior a 2 µm. Poelt (1965) realitza un estudi comparatiu entre dues espècies del grup, *C. aurea* (Schaerer) Zahlbr. i *C. paulii* Poelt, i les espècies de *Fulgensia* i observa que presenten caràcters intermedis entre les espècies lobulades de *Caloplaca* i el gènere *Fulgensia*. Actualment també s'inclou en aquest grup *C. scrobiculata* H. Magn. (= *C. anularis* Clauzade & Poelt).

Grup de *C. carphinea*. - Inclou dues espècies, *C. carphinea* (Fr.) Jatta i *C. scoriophila* (A. Massal.) Zahlbr. Aquestes espècies se separen de la resta pel color groguenc pàl·lid, més o menys verdós, del tal·lus, que és degut a la presència d'àcid úsnic. Es coneix principalment a la regió mediterrània i les illes Canàries. Tot i trobar-se tradicionalment associades al subgènere *Gasparrinia*, macroscòpicament les espècies d'aquest grup recorden més aviat *Dimelaena oreina* (Ach.) Norman, que també conté àcid úsnic. Malgrat tot, el disc de l'apoteci conté emodina i parietina (Hansen *et al.* 1987, Santesson 1970b) i les ascòspores són polariloculars, com les típiques del gènere *Caloplaca*. En les anàlisis cladístiques de Kärnefelt (1989) aquest grup mostra una clara separació respecte a la resta d'espècies del gènere *Caloplaca*. Breuss (1989) hi dedica un petit estudi en el què es reconeixen dues espècies anteriorment tractades com a subespècies.

Grup de *C. persica*. - Aquest grup està format per un petit nombre d'espècies que abans havien estat incloses en el gènere *Xanthoria* i són totes corticícoles. Aquest grup va ser també tractat com a *Caloplaca* secció *Xanthoriella* per Steiner & Poelt (1982). Està constituït per tres espècies: *C. persica* (J. Steiner) M. Steiner & Poelt, *C. lobulata* (Flörke) Hellb. i *C. polycarpoides* (J. Steiner) M. Steiner & Poelt (Steiner & Poelt 1982), i presenta un clar problema d'afinitat genèrica. Després d'un estudi morfològic, Steiner & Poelt (1982) afirmen que aquestes espècies no pertanyen al gènere *Xanthoria*, ja que no presenten ni còrtex inferior ni rizines, raó per la qual cal mantenir-les a *Caloplaca*. Suggereixen també que la presència d'altres caràcters correlacionats, com els apotecis lleugerament estipitats i amb l'interior molt laxe o buit, recolza la inclusió de les tres espècies en una mateixa secció (*Xanthoriella*). Steiner & Poelt (1982) consideren que la inclusió d'aquest grup dins de *Caloplaca* sense cap classificació infragenèrica no és gens raonable. Clauzade & Roux (1985) per contra, no tenen en compte la secció, tot i que mantenen el grup diferenciat dins *Gasparrinia*.

Grup de *C. saxicola*. - Representa el nucli de les espècies lobulado-efigurades. Clauzade & Roux (1985) inclouen en aquest grup les espècies següents: *C. decipiens* (Arnold) Jatta, *C. cirrochroa* (Ach.) Th. Fr. (amb la subespècie *fulva* (Körb.) Clauzade & Cl. Roux), *C. obliterans* (Nyl.) Jatta, *C. littorea* Tav., *C. verruculifera* (Vain.) Zahlbr., *C. granulosa* (Müll. Arg.) Jatta, *C. gloriae* Llimona & Werner, *C. scopularis* (Nyl.) Lettau, *C. saxicola* (Hoffm.) Nordin (amb les subespècies *laceratula* (Arnold) Clauzade

& Cl. Roux, *arnoldii* (Wedd.) Clauzade & Cl. Roux, *miniata* (Hoffm.) Clauzade & Cl. Roux, *biatorinoides* Clauzade & Cl. Roux, *pulvinata* (A. Massal.) Clauzade & Cl. Roux, i *obliterata* (Pers.) Clauzade & Cl. Roux), *C. tenuata* (Nyl.) Zahlbr., *C. biatorina* (A. Massal.) J. Steiner (amb la subespècie *gyalolechioides* (Müll. Arg.) Clauzade & Cl. Roux), *C. microthallina* (Wedd.) Zahlbr., *C. marina* (Wedd.) Zahlbr., *C. necator* Clauzade & Poelt, *C. tenuatula* (Nyl.) Zahlb. i les seves subespècies i varietats. Els mateixos autors incorporen, com entrades en la clau del grup, espècies d'altres grups i, fins i tot, d'altres gèneres, com *Xanthoria*. Això posa de manifest que els límits són poc clars en aquest ampli i divers grup.

Cal tenir en compte que altres autors no coincideixen amb aquesta agrupació. Per exemple, Poelt (1954) divideix les espècies lobulades en 7 grups (a, b, c, d, e, f, g), seguint uns criteris totalment diferents (vegeu taula 1.4.).

Nordin (1972), després de l'estudi de material del nord d'Europa, arriba a la conclusió que la secció *Gasparrinia* és un grup ben diferenciat. Hi considera 16 espècies sense formar grups: *C. marina*, *C. microthallina*, *C. thallincola*, *C. scopularis*, *C. verruculifera*, *C. decipiens*, *C. flavescens*, *C. saxicola*, *C. biatorina*, *C. cirrochroa*, *C. obliterans*, *C. proteus*, *C. chrysodeta* (Vainio ex Räsänen) Poelt, *C. aractina* (Fr.) Häyrén i hi afegeix dues espècies normalment incloses en altres seccions, *C. citrina* (Hoffm.) Th. Fr. i *C. tominii* Savicz.

Verseghy (1970, 1971, 1972), en la monografia del grup a Hungria, encara considera *Gasparrinia* com a gènere i hi descriu 13 espècies amb diverses formes i varietats, sense ordenar-les en grups.

Kärnefelt (1989) inclou dins *Gasparrinia* les espècies amb tal·lus lobulats i corticats, però deixa en grups a part les espècies que tenen espores citriformes (grup de *C. aurantia*), àcid úsnic (grup de *C. carphinea*), o que estan relacionades amb *Fulgensia* (grup de *C. aurea*). Les espècies que presenten reproducció asexual es tracten en un grup format per espècies diverses, independentment de la seva morfologia. És evident, però, que no es tracta d'un sistema de classificació formal. En el mateix treball, es refereix a algunes espècies lobulades que no trobem en treballs anteriors (p.ex. *C. ochraceofulva* (Müll. Arg.) Jatta, *C. orthoclada* Zahlbr., *C. sublobulata* (Nyl.) Zahlbr.).

I, finalment, Wetmore & Kärnefelt (1998) tampoc delimiten grups per a les 19 espècies lobulades que estudien d'Amèrica del Nord i Amèrica Central i consideren que el subgènere *Gasparrinia* no és un grup natural, i que no pot ser tractat a cap nivell taxonòmic.

A part de les espècies mencionades per als diferents grups, es coneixen algunes espècies amb lòbuls al marge més o menys ben desenvolupats que mai no han estat incloses en la secció *Gasparrinia*. Per exemple, *C. cinnabarina* (Ach.) Nyl., *C. dolomiticola* (Hue) Zahlbr. o *C. haematodes* (A. Massal.) Zahlbr.

Per altra banda, cal anar amb compte amb algunes de les espècies que tot i haver estat incloses a *Gasparrinia* són difícils de definir basant-se en l'estructura dels lòbuls marginals (p.ex. *C. littorea* Tav., *C. marina* (Wedd.) Zahlbr., *C. microthallina* (Wedd.) Zahlbr. o *C. necator* Clauzade & Poelt).

Independentment de les diferents classificacions de *Caloplaca* subgènere *Gasparrinia*, és evident que el problema més important rau en la seva delimitació respecte el gènere *Xanthoria*. Aquesta delimitació es basa únicament en la presència o absència d'un còrtex inferior. *Xanthoria* normalment presenta dues capes corticals, la superior i la inferior, mentre que *Caloplaca* subgènere *Gasparrinia* només en té una, la superior. Tot i així, s'ha observat una certa tendència a desenvolupar còrtex inferior en algunes espècies, com ara *C. scopularis* (Poelt & Roumach 1977) i *C. thallincola* (Kärnefelt 1989).

Justificació d'aquest estudi:

Com ja menciona Poelt (1954): "*die Durcharbeitung der Eucaloplaca-Arten Mitteleuropas allein aber würde noch eine Reihe von Jahren erfordern*" (la revisió detallada de només les espècies de *Caloplaca* d'Europa Central ja requeriria la inversió d'una gran quantitat d'anys). En el nostre cas, abordar la revisió de tot el gènere *Caloplaca* en un període de temps limitat era pràcticament impossible. El subgènere *Gasparrinia* semblava un objectiu assequible per a nosaltres, tot i saber que potser es tractava d'un grup no natural. Com ja hem vist, inclou grups de tàxons més o menys delimitats, encara que mal coneguts. Ja que el grup de *C. saxicola* reuneix la variabilitat més gran i es presenta com al més extens i mal delimitat, i clarament necessitat d'una revisió, va ser triat per a ésser revisat en primer lloc. Es tracta, a més, d'un grup que ha rebut poca atenció, a causa de la dificultat que comporta l'estudi d'una diversitat tan gran. Només en els treballs de Poelt (1969) i de Clauzade & Roux (1985) trobem els tàxons del grup de *C. saxicola* tractats amb una mica més de profunditat. Especialment els referits a *C. saxicola* i a *C. biatorina*, que es tracten amb el rang de varietat en la primera obra i en el de subespècie en la segona. Altres autors, com Nordin (1972), tracten aquests tàxons com a espècies àmplies, sense tenir en compte les variacions que presenten. Fins i tot, Wetmore & Kärnefelt (1998) no arriben a diferenciar entre *C. saxicola* i *C. biatorina*, i eviten el problema amb la indicació: "*the C. saxicola group needs further study*".

Taula 1.3. Tractament sistemàtic de *Caloplaca* subgènere *Gasparriina* segons diferents autors

Fries (1871)	Poelt (1954)	Wade (1965)	Poelt (1969)	Verseghy (1970-1972)	Nordin (1972)	Clauzade & Roux (1985)	Wetmore & Kärnefelt (1998)
[Secció <i>Gasparriina</i>]	[<i>Caloplaca</i> lobulades]	[Secció <i>Gasparriina</i>]	[Secció <i>Gasparriina</i>]	[Gènere <i>Gasparriina</i>]	[<i>Caloplaca</i> lobulades]	[Subgènere <i>Gasparriina</i>]	[Especies lobulades i subtrunculoses]
<i>C. callopsisma</i> (Ach.) Th. Fr.	a - ohne näheren Anschluss	<i>C. arnoldii</i> (Wedd.) Zahlbr. ex Ginzbdg.	<i>C. alcarum</i> Poelt	<i>G. cirrochroa</i> (Ach.) Stein.	<i>C. biatorina</i> (A. Massal.) J. Steiner	Grup de <i>C. aurantia</i>	<i>C. appressa</i> (Wetmore & Kärnefelt)
<i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.	b - Alpinae	<i>C. aurantia</i> (Pers.) Hellb.	<i>C. arnoldii</i> (Wedd.) Zahlbr.	f. <i>calicicola</i> (Anzi) Vers.	<i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.	Grup de <i>C. aurea</i>	<i>C. brattiae</i> Weber
<i>C. murorum</i> (Ach.) Th. Fr.	c - Aurantiae	<i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.	<i>C. aurantia</i> (Pers.) Hellb.	f. <i>coroniplaca</i> (Suza.) Szat.	<i>C. citrina</i> (Hoffm.) Th. Fr.	Grup de <i>C. carphinea</i>	<i>C. brouardii</i> (de Lesd.) Zahlbr.
	d - Soraliferae	<i>C. decipiens</i> (Arnold) Jatta	var. <i>heppiana</i> (Müll. Arg.) Poelt	f. <i>leprosa</i> (Lamy) Vers.	<i>C. chrysodeta</i> (Vain. ex Räsänen) Dombro.	Grup de <i>C. persica</i>	<i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.
	e - Murales	<i>C. granulosa</i> (Müll. Arg.) Jatta	var. <i>papillata</i> Poelt	<i>G. decipiens</i> (Arn.) Syd.	<i>C. decipiens</i> (Arnold) Jatta	Grup de <i>C. saxicola</i>	<i>C. cladodes</i> (Tuck.) Zahlbr.
	f - Granulosae	<i>C. heppiana</i> (Müll. Arg.) Zahlbr.	<i>C. aurea</i> (Schaer.) Zahlbr.	f. <i>citrascens</i> (Erichsen) Vers.	<i>C. flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon		<i>C. coralloides</i> (Tuck.) Hulting
	g - Biatorinae	var. <i>brevilobata</i> (Nyl.) Wade	<i>C. biatorina</i> (A. Massal.) Steiner	f. <i>compacta</i> (Arn.) Vers.	<i>C. marina</i> Wedd.		<i>C. cupulifera</i> (Vain.) Zahlbr.
		<i>C. littorea</i> Tav.	var. <i>baumgartneri</i> (Zahlbr.) Poelt	f. <i>leprosa</i> (Arn.) Vers.	<i>C. microthallina</i> Wedd.		<i>C. decipiens</i> (Arnold) Blomb. & Forssell
		<i>C. marina</i> Wedd.	var. <i>gyalolechioides</i> (Müll. Arg.) Poelt	f. <i>sublaevata</i> (Mereschk.) Szat.	<i>C. obliterans</i> (Nyl.) Jatta		<i>C. eugyra</i> (Tuck.) Zahlbr.
		var. <i>flavogranulata</i> Wedd.	<i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr.	<i>G. obliterans</i> (Nyl.) Dalla Torre	<i>C. proteus</i> Poelt		<i>C. galactophylla</i> (Tuck.) Zahlbr.
		<i>C. microthallina</i> Wedd.	<i>C. decipiens</i> (Arnold) Jatta	<i>G. xantholyta</i> (Nyl.) Szatala	<i>C. thalinoidea</i> (Wedd.) Du Rietz		<i>C. ignea</i> Arup
		<i>C. murorum</i> (Ach.) Th. Fr.	<i>C. granulosa</i> (Müll. Arg.) Jatta	<i>G. granulosa</i> (Müll. Arg.) Sydow	<i>C. toninii</i> Savicz.		<i>C. imposita</i> Arup

Taula 1.3. Continuació

Fries (1871)	Poelt (1954)	Wade (1965)	Poelt (1969)	Verseghy (1970-1972)	Nordin (1972)	Clauzade & Roux (1985)	Wetmore & Kärnefelt (1998)
[Secció Gasparrinia]	[Caloplaca lobulades]	[Secció Gasparrinia]	[Secció Gasparrinia]	[Gènere Gasparrinia]	[Caloplaca lobulades]	[Subgènere Gasparrinia]	[Espècies lobulades i subfruticulososes]
			<i>C. microthallina</i> Wedd.	<i>f. sciophila</i> (Meyer) Vers.			<i>C. texana</i> Wetmore & Kärnefelt
			<i>C. murorum</i> (Ach.) Th. Fr.	<i>G. heppiana</i> (Müll. Arg.) Vers.			<i>C. thamnodes</i> Poelt
			var. <i>laceratula</i> (Arnold) Poelt	<i>f. centrifuga</i> (A. Massal.) Vers.			<i>C. trachyphylla</i> (Tuck.) Zahlbr.
			<i>C. obliterans</i> (Nyl.) Jatta emend. Poelt	<i>f. centroleuca</i> (A. Massal.) Vers.			<i>C. verruculifera</i> (Vain.) Zahlbr.
			<i>C. paulii</i> Poelt	var. <i>papillata</i> (Poelt) Vers.			
			<i>C. proteus</i> Poelt	<i>G. polycarpa</i> (A. Massal.) Mer.			
			<i>C. rubelliana</i> (Ach.) Lojka	<i>G. biatorina</i> (A. Massal.) Szat.			
			<i>C. salina</i> Erichsen.	var. <i>gyalolechioides</i> (Müll. Arg.) Vers.			
			<i>C. scopularis</i> (Nyl.) Lettau.	var. <i>pusilloides</i> (Stnr.) Szat.			
			<i>C. subsoluta</i> (Nyl.) Zahlbr.	<i>G. baumgartneri</i> (Zahlbr.) Vers.			
			<i>C. tenuata</i> (Nyl.) Zahlbr.	<i>G. rubelliana</i> (Ach.) Vers.			

Taula 1.4. Espècies incloses en els cinc grups descrits per Clauzade & Roux (1985) dins el subgènere *Gasparrinia*, i en els set grups descrits per Poelt (1954) dins les espècies lobulades de *Caloplaca*.

Clauzade & Roux (1985)		Poelt (1954)	
Grup de <i>C. aurantia</i>	<i>C. aegaea</i> * Sipman <i>C. aurantia</i> (Pers.) Hellb. <i>C. flavescens</i> (Huds.) J.R. Laundon <i>C. thallicola</i> (Wedd.) Du Rietz	a - ohn. näh. Ansch.	<i>C. squamulosa</i> (Wedd.) de Lesd. <i>C. carphinea</i> (Fr.) Jatta <i>C. rubelliana</i> (Ach.) Lojka <i>C. tominii</i> Savcz. <i>C. subsoluta</i> (Nyl.) Zahlbr.
Grup de <i>C. aurea</i>	<i>C. aurea</i> (Schaer.) Zahlbr. <i>C. paulii</i> Poelt <i>C. scrobiculata</i> H. Magn.		<i>C. microthallina</i> Wedd. <i>C. tenuata</i> (Nyl.) Zahlbr.
Grup de <i>C. carphinea</i>	<i>C. carphinea</i> (Fr.) Jatta <i>C. scoriophila</i> (A. Massal.) Zahlbr.	b - Alpinae	<i>C. schistidii</i> (Anzi) Zahlbr. <i>C. aurea</i> (Schaer.) Zahlbr. <i>C. pruinosa</i> (Körb.) Zahlbr. <i>C. australis</i> (Arnold) Zahlbr.
Grup de <i>C. persica</i>	<i>C. lobulata</i> (Flörke) Hellb. <i>C. persica</i> (J. Steiner) M. Steiner & Poelt		<i>C. paulii</i> Poelt
Grup de <i>C. saxicola</i>	<i>C. biatorina</i> (A. Massal.) J. Steiner ssp. <i>gyalolechioides</i> (Müll. Arg.) Clauzade & Cl. Roux <i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr. <i>C. cirrochroa</i> ssp. <i>fulva</i> (Körb.) Clauzade & Cl. Roux <i>C. decipiens</i> (Arnold) Blomb. & Forssell <i>C. gloriae</i> Llimona & Werner <i>C. granulosa</i> (Müll. Arg.) Jatta <i>C. littorea</i> Tav. <i>C. marina</i> Wedd. <i>C. microthallina</i> (Wedd.) Zahlbr. <i>C. necator</i> Clauzade & Poelt <i>C. obliterans</i> (Nyl.) Blomb. & Forssell <i>C. saxicola</i> (Hoffm.) Nordin ssp. <i>arnoldii</i> (Wedd.) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>biatorinoides</i> Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>laceratula</i> (Arnold) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>miniata</i> (Hoffm.) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>obliterata</i> (Pers.) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>pulvinata</i> (A. Massal.) Clauzade & Cl. Roux <i>C. scopularis</i> (Nyl.) Lettau <i>C. tenuata</i> (Nyl.) Zahlbr. <i>C. tenuatula</i> (Nyl.) Zahlbr. ssp. <i>inconnexa</i> (Nyl.) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>verrucariarum</i> (Clauzade & Roux) Clauzade & Cl. Roux ssp. <i>tenuatula</i> var. <i>athallina</i> (Clauzade & Cl. Roux) Clauzade & Roux var. <i>lithophila</i> (H. Magn.) Clauzade & Cl. Roux var. <i>pertenis</i> (Harm.) Clauzade & Cl. Roux var. <i>pervulgata</i> Clauzade & Cl. Roux <i>C. verruculifera</i> (Vain.) Zahlbr.	c - Aurantiae	<i>C. aurantia</i> (Pers.) Hellb. var. <i>heppiana</i> (Müll. Arg.) Poelt var. <i>papillata</i> Poelt <i>C. thallicola</i> (Wedd.) Du Rietz
		d - Soraliferae	<i>C. microphyllina</i> (Tuck.) Hasse <i>C. obliterans</i> (Nyl.) Jatta <i>C. cirrochroa</i> (Ach.) Th. Fr. <i>C. arnoldii</i> (Wedd.) Zahlbr. var. <i>fulva</i> (Körb.) Poelt <i>C. proteus</i> Poelt
		e - Murales	<i>C. murorum</i> (Hoffm.) Th. Fr. var. <i>laceratula</i> (Arnold) Poelt <i>C. decipiens</i> (Arnold) Jatta <i>C. alcarum</i> Poelt <i>C. scopularis</i> (Nyl.) Lettau <i>C. marina</i> Wedd.
		f - Granulosae	<i>C. granulosa</i> (Müll. Arg.) Jatta <i>C. verruculifera</i> (Vain.) Zahlbr.
		g - Biatorinae	<i>C. biatorina</i> (A. Massal.) J. Steiner var. <i>gyalolechioides</i> (Müll. Arg.) Poelt var. <i>baumgartneri</i> (Zahlbr.) Poelt var. <i>sympecta</i> J. Steiner

*No considerada per Clauzade & Roux (1985).

'La science a-t-elle promis le bonheur ? Je ne le crois pas. Elle a promis la vérité, et la question est de savoir si l'on fera jamais du bonheur avec de la vérité.'

Émile Zola, 1893

CAPÍTOL 2

OBJECTIUS GENERALS

2. OBJECTIUS GENERALS

A continuació presentem els objectius generals d'aquest treball. En cada capítol, cadascun d'aquests quatre objectius es desenvolupa amb més detall:

2.1. Realitzar una revisió taxonòmica i exhaustiva del grup de *C. saxicola* i espècies properes.

2.2. Reconstruir la filogènia morfològica i molecular del grup de *C. saxicola* i evaluar la seva concordança amb la circumscripció morfològica.

2.3. Reconstruir la filogènia de la família *Teloschistaceae* amb un mostreig extens, per tal d'examinar les relacions filogenètiques entre els diferents gèneres i grups d'espècies inclosos en aquesta família.

2.4. Examinar la relació filogenètica entre les famílies *Teloschistaceae* i *Letrouitiaceae*.

'La ciencia navega entre dos polos: lo deseable y lo posible. Sin lo posible, lo deseable no es más que sueño. Sin lo deseable, lo posible no es sino fastidio'

François Jacob, 1997

'All models are wrong, but some are useful'

George Box

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA GENERAL

3. METODOLOGIA GENERAL

3.1. INTRODUCCIÓ

En els estudis filogenètics, un dels aspectes que ha generat més debats i ha merescut la publicació de molts treballs és el de quina de les metodologies s'ha d'usar en la reconstrucció filogenètica. En aquest apartat, oferim una visió general del plantejament metodològic d'aquest estudi i hi descrivim les principals tècniques emprades en la inferència filogenètica. A part, en els diferents capítols d'aquest treball, precisem amb més detall la metodologia particular aplicada en cada cas.

El present estudi consta de dues parts clarament diferenciades: d'una banda, s'ha realitzat la revisió taxonòmica i nomenclatural del grup de *Caloplaca saxicola*, i d'una altra s'ha intentat reconstruir les relacions filogenètiques dels tàxons inclosos en aquest grup, i també establir la seva posició en la família *Teloschistaceae*. Els passos seguits en les dues parts es resumeixen en la figura 3.1. L'objectiu d'aquesta aproximació concertada de la filogènia, *bottom-up* (partint d'un grup concret) amb el grup de *C. saxicola*, i *top-down* (partint d'un mostreig ampli) amb les *Teloschistaceae*, ha estat el d'establir el marc per a una classificació més coherent i estable per aquest grup d'organismes.

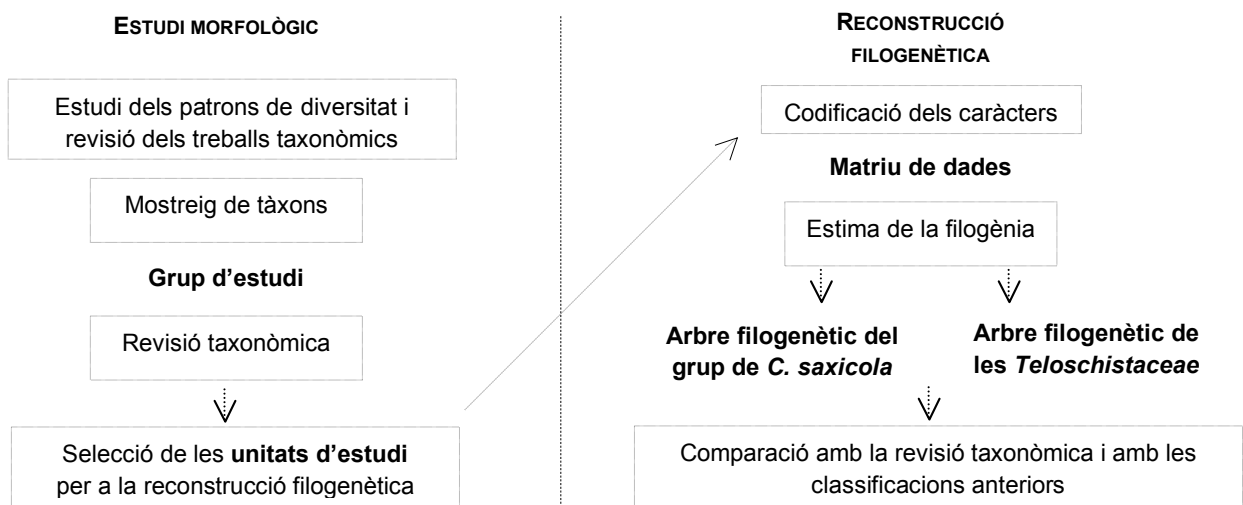


Figura 3.1. Passos seguits en les revisions morfològica i molecular del grup de *C. saxicola* i de la família *Teloschistaceae*.

3.2. ESTUDI MORFOLÒGIC

3.2.1. MOSTREIG DE TÀXONS I DELIMITACIÓ DE LES UNITATS D'ESTUDI

En aquest treball, el principal problema a l'hora de delimitar les unitats d'estudi ha estat l'obtenció d'un nombre suficient d'exemplars que fos representatiu de la diversitat subjacent del grup que investigàvem. Idealment, hauríem d'haver tingut a l'abast tots els tàxons existents. Aquest fet és, evidentment, impossible, per la qual cosa hem procedit a realitzar un mostreig el més extens possible, tot i sabent-lo parcial. El mostreig s'ha realitzat a partir de material fresc recol·lectat per nosaltres mateixos, així com d'exemplars en préstec procedents de museus i col·leccions privades.

Prendini (2001) suggereix que les espècies són els millors tàxons terminals per a ser utilitzats quan s'intenta definir les relacions i els processos en tots els nivells supraespecífics. Però la majoria d'estudis es troben amb un problema: saber quin concepte d'espècie és el que s'ha d'aplicar. A més, un cop es troba més o menys establert el concepte d'espècie, la delimitació de les unitats d'estudi també pot resultar problemàtica. Sovint, s'ha de realitzar una revisió taxonòmica completa abans de poder delimitar el grup de tàxons terminals, i aquest ha estat el nostre cas.

A continuació, comentem breument els diferents conceptes d'espècie que s'han emprat en l'estudi dels líquens i els criteris que es poden utilitzar per a la delimitació de les espècies.

Concepte d'espècie en liquenologia.- La simbiosi líquènica és una estratègia evolutiva que ha donat lloc a una rica diversitat d'espècies fúngiques. El fet de delimitar acuradament aquestes espècies i posar-los un nom encara es considera de gran importància, ja que la riquesa de la informació biològica es troba lligada amb aquests noms. Els estudis que es basen en dades moleculars i en conceptes d'espècie revisats poden servir per a reevaluar les classificacions prèvies i proporcionar d'aquesta manera una delimitació de les espècies encara més precisa.

Els líquens presenten diferents formes de creixement, diferents tipus d'estructures sexuals i metabolits secundaris molt diversos. Malgrat que aquestes característiques poden ser utilitzades en la classificació, fins fa poc ha estat pràcticament impossible desenvolupar una hipòtesi clara de la història evolutiva dels principals grups taxonòmics, a causa del considerable nombre de caràcters no

homòlegs que presenten, i de la sospita que s'ha produït un desenvolupament de caràcters convergents, en diversos nivells.

Concepte fenotípic d'espècie.- La gran majoria d'espècies de líquens s'han descrit a partir d'un concepte morfològic d'espècie que assumeix el monomorfisme per a donar categoria a la gran diversitat de formes dels líquens. Així, les diferències en els caràcters morfològics i anatòmics s'han utilitzat per a separar els tàxons, entre ells les espècies. Però hi ha moltes d'aquestes espècies que es basen en diferències que sovint semblen ser ambientals, més que no pas basades en caràcters genètics.

El factor geogràfic també ha tingut importància, i moltes poblacions al·lopàtrides s'han descrit com a espècies diferents. Actualment, la variació dels caràcters morfològics es coneix millor, i la taxonomia s'ha anat definint en molts grups. Les aplicacions prèvies del concepte d'espècie morfològica han estat sovint usades per a descriure morfotipus en el si de complexos polimòrfics, amb categories d'espècies diferents o, ocasionalment, de subespècies. Moltes d'aquestes morfoespècies s'han reduït a sinonímia quan hem disposat d'un millor coneixement de les formes morfològiques de transició, però també, altres morfoespècies han estat confirmades, en establir la correlació amb un morfotipus fixat (Clerc 1998). Malgrat tot, molts complexos d'espècies romanen encara sense estudiar, i els grups morfològics ben diferenciats no són clars. De manera semblant, el concepte d'espècie química, que assumeix una uniformitat a nivell d'espècie, s'ha aplicat en certs grups de líquens, fet que ha donat lloc a la descripció d'un gran nombre de tàxons que sovint no es distingeixen morfològicament.

Concepte d'espècie filogenètica molecular.- El concepte d'espècie filogenètica basada en caràcters moleculars s'ha utilitzat actualment per a delimitar les espècies en molt grups de líquens; i també per determinar a posteriori quins són els caràcters morfològics útils per a definir les espècies filogenètiques i establir com aquests caràcters han evolucionat en els fongs liquenitzats. En els estudis d'espècies que han estat aïllades genèticament durant un període de temps suficient, un sol locus pot arribar a separar-les en clades discrets d'al·lels que es correlacionen amb caràcters morfològics fixats. Però cal tenir en compte que els caràcters moleculars, igual que els morfològics, també poden ser polimòrfics per una espècie filogenètica (Avice & Wollenberg 1997). La concordança entre la genealogia d'un sol gen amb la hipòtesi filogenètica basada en caràcters del fenotip o biogeogràfics pot suggerir que hi ha divergència entre les espècies filogenètiques. Però si els clades diferenciats no es correlacionen amb el fenotip o la biogeografia, els dos grups de dades en contradicció no seran suficients per a determinar els límits entre les espècies. Aleshores, en aquests casos, caldrà utilitzar més d'un locus, per tal de delimitar amb precisió les espècies.

Quan les dades moleculars suggereixen que la filogènia d'un grup d'espècies difereix de les espècies actualment descrites, Grube & Kroken (2000) proposen aplicar diferents criteris abans d'establir les noves categories per als clades resultants i introduir els oportuns canvis taxonòmics:

1) La mida de la mostra estudiada ha de ser suficientment gran i taxonòmicament prou completa, i incloure tots els subtàxons pertinents de l'espècie en qüestió. És difícil definir la mida crítica de la mostra: si l'espècie es troba ben delimitada genèticament poques mostres seran suficients, mentre que en caldrà un nombre més gran per a detectar espècies de divergència recent.

2) Les anàlisis filogenètiques han d'aconseguir un alt grau de confiança. En els estudis d'un sol locus, els clades que semblin indicar l'existència de noves espècies hauran de ser recolzats amb valors alts de confiança, o tests estadístics, i hauran de ser congruents com a mínim amb un caràcter morfològic. Una filogènia basada en un sol locus, i que no recolzi una o més espècies prèviament descrites no serà una prova suficient per a agrupar-les en una de sola. En aquests casos, s'hauran d'usar múltiples locus per intentar separar cada espècie que hagi divergit recentment.

3) El coneixement taxonòmic i la història nomenclatural de cada espècie haurà de ser revisada. Potser caldrà recuperar noms que prèviament han estat sinonimitzats, si es corresponen amb el concepte de la nova espècie tenint en compte els caràcters morfològics de l'exemplar tipus. Si aquest tipus és molt antic, es podrà aplicar el concepte d'epítipus.

4) En els casos en què els grups d'espècies corresponguin a diferents espècies críptiques, el rang de subespècie podrà aplicar-se, si no existeixen suficients caràcters morfològics, o bé, no tenen una separació biogeogràfica.

Cal esmentar que, en aquest treball, algunes espècies han estat tingudes en consideració encara que estiguessin representades per un sol exemplar, quan la particular combinació de caràcters d'aquest exemplar plantejava la possibilitat de considerar-lo com a una morfoespècie independent, i el fet d'incloure'l en una altra espècie hauria alterat la diagnosi d'aquesta.

En general, les dades moleculars, juntament amb els caràcters morfològics, l'ecologia i la distribució biogeogràfica poden arribar a donar un millor coneixement de l'evolució de les espècies de líquens. Els estudis que integrin tots aquests caràcters poden ajudar a refinar el concepte d'espècie i permetre una millor comprensió de la biologia i l'adaptació ecològica de la simbiosi líquènica (Grube & Kroken 2000). És aquesta perspectiva integradora la que hem mirat d'aplicar en l'estudi que hem realitzat dels tàxons lobulats del gènere *Caloplaca*.

3.3. RECONSTRUCCIÓ FILOGENÈTICA

Una cop revisades, delimitades i seleccionades les unitats d'estudi, hem procedit a inferir les relacions filogenètiques entre aquestes unitats. Les relacions filogenètiques normalment es resumeixen en arbres filogenètics, que són una representació gràfica de les relacions genealògiques entre els tàxons. En general, inferir una filogènia és un procés d'estimació; nosaltres hem fet el què es denomina una "millor estimació" d'una història evolutiva basant-nos en la informació incompleta continguda en les dades de què disposem. No s'ha d'oblidar que hi ha la possibilitat de realitzar estimacions inexactes d'un arbre, de manera que qualsevol que confïi en aproximacions comparatives ha d'ésser conscient dels obstacles que es presenten en la reconstrucció d'arbres (Holder & Lewis 2003).

El primer pas en la reconstrucció filogenètica consisteix en recuperar els caràcters homòlegs de les unitats d'estudi, per tal de codificar-los i construir, així, una matriu que permeti la comparació entre tàxons. Els usos i mals usos del terme homologia emmarquen un tema complicat. Les dificultats en el seu ús sorgeixen com a resultat del diferent significat que li donen alguns morfòlegs i alguns biòlegs moleculars (Patterson 1988, Reeck et al. 1987, Aboitiz 1987, Hillis 1994). En general, el terme homologia significa existència inferida d'un antecessor comú, encara que és freqüentment emprat, de forma errònia, amb el significat de similaritat (Fitch 1966, 1970; Reeck et al. 1987).

Els caràcters emprats en la reconstrucció filogenètica poden anar des de caràcters morfològics (macroscòpics i microscòpics), químics, fins a diferents tipus de marcadors moleculars. Aleshores, a partir de la matriu de dades s'inferix la filogènia per mitjà d'una sèrie d'algoritmes matemàtics. Si assumim que l'algoritme usat recupera correctament el senyal filogenètic contingut en la matriu de dades, hem de tenir en compte que les relacions evolutives obtingudes són sempre les de les seqüències dels gens, les dels caràcters morfològics o les de la informació que hàgim emprat. Els estudis filogenètics assumeixen que les filogènies dels caràcters són una aproximació raonable a les filogènies dels organismes, però pot ser que no sigui així (Maddison 1997, Nichols 2001). Per això, cal ser prudent a l'hora d'extreure conclusions que facin referència als processos evolutius experimentats pels tàxons. Aquesta preocupació sobre la concordança entre l'arbre de caràcters i la filogènia dels organismes ha estat posada de manifest en repetides ocasions (p.e. Doyle 1992, Avise 1994).

3.3.1. FILOGÈNIA MORFOLÒGICA

Durant molt de temps hi ha hagut una controvèrsia important sobre si els trets morfològics o els moleculars són, inherentment, les millors fonts d'informació per estimar la filogènia (Patterson et al. 1993). Alguns autors han declarat que els caràcters moleculars són relativament febles (Kluge 1983, Jenner 2004, Poe & Wiens 2000, Wiens 2004), mentre que d'altres han considerat que els caràcters morfològics són enganyosos i no informatius (Frelin & Vuilleumier 1979, Sibley & Ahlquist 1987, Lamboy 1994). És evident que aquest conflicte entre les dades moleculars i les morfològiques ha estat exagerat (Hillis 1987, Wiens & Hillis 1996). Les preocupacions reals d'un sistemàtic han de ser les següents: que els caràcters estudiats mostrin una variació apropiada a la qüestió proposada, que els caràcters tinguin una base genètica clara i independent, i que les dades hagin estat recollides i analitzades d'una manera que faci possible comparar-les i combinar-les en hipòtesis filogenètiques. El desenvolupament de la sistemàtica molecular, doncs, no ha conduït pas a una refutació generalitzada de les hipòtesis filogenètiques generades en base a la morfologia; però és clar que l'aproximació molecular pot ser reveladora en situacions on la variació morfològica és limitada, o l'homologia dels trets morfològics no és clara.

La filogènia basada en dades morfològiques no ha estat sotmesa a gaires discussions metodològiques. Només recentment s'han realitzat alguns intents per aplicar noves tècniques d'inferència bayesiana als caràcters morfològics, com una alternativa a l'aproximació de màxima parsimònia no paramètrica (Lewis 2001a). No obstant això, aquesta aplicació és encara a les beceroles i les aproximacions paramètriques encara no són aplicables en molts casos (Nylander et al. 2004). En el capítol 5 es discuteixen detalladament les diferents posicions adoptades a l'hora d'aplicar els caràcters morfològics a la filogènia.

3.3.2. FILOGÈNIA BASADA EN DADES MOLECULARS

Cal tenir en compte que en el context de la sistemàtica molecular normalment no disposem d'informació directa sobre el passat, ja que només tenim accés a les espècies contemporànies i a les molècules. En aquest apartat, intentem fer una aproximació a la metodologia involucrada en la reconstrucció de filogènies a partir de seqüències de fragments de gens.

3.3.2.1. TRIA DEL MARCADOR MOLECULAR

En líquenologia, des de finals dels anys noranta, els arbres filogenètics moleculars basats en seqüències de gens han estat àmpliament usats com una aproximació a les relacions evolutives entre diferents grups de tàxons. Si assumim que les taxes evolutives són variables al llarg del genoma, la seqüenciació de diferents marcadors moleculars amb diferents taxes evolutives ha estat un objectiu primordial per tal de poder inferir filogènies a tots els nivells de les diferents categories taxonòmiques. Constantment se cerquen nous marcadors que puguin resoldre amb més precisió les relacions que hi ha entre els líquens. Per exemple, darrerament s'ha estat evaluant la contribució que pot tenir el gen RPB2 en l'estudi filogenètic dels euascomicets (Reeb et al. 2004) i en el projecte AFTOL - *Assembling the Fungal Tree Of Life* (Lutzoni et al. 2004).

En aquest estudi, hem utilitzat un únic marcador molecular, el separador transcrit intern del nrDNA (ITS). La tria d'aquest marcador s'ha realitzat ja que es disposava d'un coneixement previ sobre el seu rendiment en el mateix nivell jeràrquic en d'altres grups de líquens. El fet de treballar amb un marcador que ja ha estat emprat permet la comparació de diferents grups de dades, i és probable que arribi a respondre bé a un nombre més gran de qüestions filogenètiques.

3.3.2.2. SEQÜENCIACIÓ

Actualment, l'obtenció de seqüències de DNA es realitza de forma generalitzada amb el mètode de la *Polymerasa Chain Reaction* (PCR) (Mullis & Faloona 1987, Saiki et al. 1988, Hillis et al. 1996). La metodologia particular emprada en aquest treball es descriu en el capítol 5.

3.3.2.3. ALINEAMENT

El procés d'alineament és probablement un dels components amb més dificultat i menys entesos de l'anàlisi filogenètica. Tot i així, els problemes d'alineament no han rebut tanta atenció en comparació amb els aspectes teòrics de la reconstrucció filogenètica (Doyle & Davis 1998).

L'alineament múltiple de seqüències es basa en el procés d'afegir *gaps* (espais) a una matriu de dades, de manera que els nucleòtids (o aminoàcids) alineats en una columna de la matriu es trobin relacionats entre ells per descendència d'un residu ancestral comú. Un gap en una seqüència pot indicar que la posició s'ha perdut en aquell tàxon, o que una base ha estat inserida en aquella posició en un altre tàxon. És

a dir, que les posicions inferides són homòlogues en la mateixa columna. Un cop alineada la matriu, aquesta s'utilitza com a dades d'entrada per a l'anàlisi filogenètica.

Encara que existeixen algorismes automàtics d'aliniament, en aquest treball hem preferit alinear de forma manual les nostres seqüències amb el programa McClade 4.01 (Maddison & Maddison 2001).

En el procés d'alineament, a vegades apareixen regions que no és possible d'alinear. Les insercions i delecions (=supressions) [indels] sovint dificulten l'assignació de posicions homòlogues, especialment en porcions del genoma que no codifiquen per proteïnes i que són altament divergents. Aquestes regions són precisament un dels problemes més estesos en l'anàlisi filogenètica de les seqüències de DNA, i una tema de gran controvèrsia (Giribet & Wheeler 1999, Simmons & Ochoterena 2000, Lee 2001). Per tal d'evitar conflictes, en molts estudis s'ignoren aquestes regions eliminant-les prèviament a l'anàlisi. S'assumeix de forma implícita que aquestes regions contenen poca senyal filogenètica (Page et al. 2002), o bé, que són poc fiables (Golenberg et al. 1993), i diferents autors, fins i tot, argumenten que la seva eliminació ha de contribuir a millorar la precisió filogenètica (Yang 1998). Malgrat tot, hi ha altres autors que afirmen que l'eliminació de dades pot ser massa arbitrària, o que es pot estar eliminant informació filogenètica o evolutiva útil (p.ex. Lee 2001, Simmons et al. 2001 Eernisse & Kluge 1993, Vogler & DeSalle 1994, Simmons & Mayden 1997, Freudenstein & Chase 2001). L'ambigüitat d'alineament pot afectar només a un tàxon, essent la regió totalment alineable i filogenèticament informativa per a la resta de tàxons. A més, precisament perquè aquestes són normalment les regions que evolucionen més ràpidament, les regions ambiguament alineables poden ajudar millor a resoldre grans divergències i contribuir, al mateix temps, en les estimacions tant de longitud de branca, com de taxes evolutives i de temps de divergència.

Un altre dels motius generalitzats a l'hora d'evitar aquestes regions és la inversió de temps requerit per a determinar els estats dels caràcters basats en *gaps* i per a poder introduir manualment aquesta informació en una matriu de dades. I evidentment, la dificultat de triar quin és el millor mètode per a definir els estats de caràcters homòlegs en aquestes regions també és un dels frens per a la seva utilització.

3.3.2.4. ANÀLISI DE GAPS

Existeixen diverses opcions en el tractament de les regions no alineables. La més conservadora, com ja hem esmentat, és l'exclusió d'aquestes regions en les cerques filogenètiques (p.ex. Bruns et al. 1992, Berbee & Taylor 1993, Hibbet & Vilgalys 1993, Spatafora & Blackwell 1993, Lutzoni 1995, Berbee 1996). Però la subjectivitat d'aquest procés, depenent de la combinació de posicions excloses, pot

donar lloc a diferents filogènies. També pot comportar una pèrdua de resolució (Lutzoni 1995, Wheeler et al. 1995), o es poden estar eliminant dades essencials que haurien de permetre una millor estimació de la longitud de branca. Això és degut a que les regions ambigües poden contenir una gran proporció de tots els caràcters pasimoniosament informatius que es presenten en un alineament donat. L'exclusió o la inclusió d'aquestes regions comporta, doncs, un efecte determinant en els resultats de l'anàlisi filogenètica (Giribet & Wheeler 1999). Un altre problema de l'exclusió és el de com delimitar de forma precisa aquestes regions. Una solució extrema ha estat la d'incloure totes les posicions en l'anàlisi filogenètica a partir d'un dels diversos alineaments igualment òptims i, simultàniament, tractar els *gaps* com a cinquè estat del caràcter. El principal problema d'aquesta estratègia és el sobrepes que assoleixen els *gaps* adjacents en tractar-los com a indels independents quan, molt probablement, són part d'un sol canvi genètic.

Per altra banda, Swofford et al. (1996) i Simmons et al. (2001) suggereixen que cal considerar-los com a dades *missing* (absents), ja que consideren que no hi ha un procediment apropiat per tractar esdeveniments que són conseqüència de processos diferents d'aquells que actuen en la substitució de bases, i que els *gaps* no ofereixen una informació filogenètica fiable. Lutzoni et al. (2000), en canvi, afirmen que aquest tractament fa que l'homologia posicional resti altament discutible i que molt probablement sigui errònia. A més, aquesta estratègia té el potencial de generar arbres ben resolts, fet que és interpretat erròniament com a un senyal de precisió filogenètica (Hillis et al. 1994). La inclusió de totes les posicions d'un alineament amb regions ambigües s'hauria de fer només si tots els alineaments mostren la mateixa topologia. Almenys s'hauria d'explorar la sensibilitat de l'anàlisi filogenètica davant de la inclusió de diversos alineaments per a una mateixa regió ambigua (Baum et al. 1994).

A part de les opcions exposades, Lee (2001) destaca tres mètodes potencialment útils per a incorporar les regions alineades ambigüament en anàlisis filogenètiques i evolutives, aquests mètodes són: el d'**anàlisi múltiple**, que evalua cada possible alineament per separat i cerca les àrees de congruència entre els arbres resultants (p.ex. Phillips et al. 2000, Wheeler 1995); el **mètode d'elisió**, que combina tots els alineaments possibles en una sola anàlisi (Thornton & DeSalle 2000, Wheeler et al. 1995); i l'anomenat **alineament fragment-level** (=caràcters fixats, INAASE), que tracta tota la secció no alineable com a un sol caràcter multiestat. A continuació comentem més detalladament aquest darrer mètode, ja que ha estat el que hem utilitzat en el nostre estudi.

Alineament fragment-level.- Wheeler (1999) i Lutzoni et al. (2000) han desenvolupat independentment un nou mètode que han anomenat respectivament

fixed character state i INAASE (INtegration of Ambiguously Aligned Sequences). Nosaltres hem seguit la terminologia adoptada per Lee (2001), que considera el terme "alineament *fragment-level*" (Wheeler 2001a) com al més oportú per anomenar tots dos mètodes. Aquesta aproximació es basa en la premisa que encara que existeixi una correspondència un a un entre posicions nucleotídiques en les regions alineables no ambiguament, aquesta correspondència desapareix a les regions alineades ambiguament. No obstant això, la regió alineada ambiguament pot ser tractada com una sola entitat homòloga al llarg de tots els tàxons. Així, aquesta regió es recodifica com un sol caràcter multiestat, i es pren cada variant de la seqüència considerada com a un estat de caràcter separat. A partir d'aquí es construeix una *step matrix* (matriu esglaonada) on cada estat (variant de la seqüència) es relaciona amb cadascun dels altres estats a través d'un cost que es basa en els canvis (substitucions i *gaps*) requerits per convertir una variant de seqüència en una altra. Totes les transformacions possibles entre variants de seqüència estan permeses, però les transformacions entre estats altament divergents impliquen costos més grans. En general, aquest mètode reté amb èxit el contingut de la informació de la regió ambigua. Prova tots els alineaments en cada regió i escull per a cadascuna l'únic alineament que afavoreixi al màxim la parsimònia global.

Malgrat tot, aquesta aproximació presenta dificultats pràctiques (Wheeler 1999, Lutzoni et al. 2000). Si la regió ambigua és molt variable, i l'anàlisi inclou molts tàxons, hi pot haver massa estats en el caràcter multiestat resultant, i no podrà ser usat en determinats programes filogenètics, com per exemple PAUP (Swofford 2002). Aquestes complexitats poden ser acomodades amb el programa POY (Giribet 2001, Gladstein & Wheeler 1997) o amb el mètode ARC (Kauff et al. 2003, Miadlikowska et al. 2003). Per altra banda, el mètode *fragment-level* no pot ser emprat ni amb màxima versemblança ni amb inferència bayesiana. Finalment, els algorismes per analitzar els caràcters multiestat per aquest mètode han d'assignar als nodes ancestrals només estats que s'observen en els tàxons terminals i, per tant, presents en la *step matrix*. Això pot ocasionar que sigui impossible recuperar l'arbre més parsimoniós (Wiens 1999). Per això sembla prudent aplicar aquest mètode només a les regions ambigües i analitzar les regions no ambigües amb els mètodes estàndards (Lutzoni et al. 2000), en lloc d'aplicar la metodologia descrita a totes les regions, tal i com es va proposar inicialment (Wheeler 1999).

A part dels mètodes esmentats per Lee (2001), encara trobem molts d'altres que no descriurem; com, per exemple, el de Simmons & Ochoterena (2000), en el que proposen que els indels siguin comptabilitzats com a caràcters addicionals d'absència o presència, i es tingui en compte la superposició de *gaps*. En qualsevol cas, és interessant examinar les diferents opcions abans d'escollir-ne la definitiva.

Finalment, volem destacar una alternativa als mètodes que requereixen un alineament previ a l'anàlisi filogenètica; es tracta de l'optimització de l'alineament o mètode d'optimització directa (Wheeler 1996, Mitchison 1999, Wheeler 2001b, Giribet et al. 2001). Aquesta aproximació pren l'alineament com una part integral de l'anàlisi filogenètica, i actua directament sobre les seqüències de nucleòtids originals. Aquesta optimització directa ofereix una solució que no vulnera l'homologia posicional. Primer s'especifiquen els costos per cada tipus de transformació involucrada (transició, transformació, *gap-opening* i *gap extension-contraction*), i aleshores es procedeix a trobar directament l'arbre evolutiu que suposi el mínim cost total de relacionar totes les seqüències entre elles. El problema principal és que aquesta aproximació fa difícil la identificació de les regions ambiguament alineables o la seva contribució a la topologia de l'arbre. A més, l'exigència de càlcul és considerable.

De fet, tots els mètodes descrits requereixen més temps computacional que no pas la simple exclusió de les regions alineades ambiguament. Però si tenim en compte l'esforç dedicat a aconseguir les seqüències, sembla malbaratador descartar grans porcions de dades només per estalviar temps de càlcul. En general, considerem decisiu el fet de trobar una manera d'integrar els *gaps* i les regions alineades ambiguament, ja que són una classe de caràcters moleculars que poden resultar excepcionalment fiables en les anàlisis filogenètiques (Lloyd & Calder 1991, Giribet & Wheeler 1999).

3.3.2.5. ESTIMACIÓ DE LA FILOGÈNIA

L'element més important en la planificació d'un projecte d'anàlisi filogenètica és el de prendre la decisió de quin mètode és l'apropiat per a resoldre la qüestió filogenètica que ens plantegem.

L'estimació d'un arbre a partir d'una matriu de seqüències sembla relativament senzilla si es parteix de l'assumpció que el nombre de diferències entre dues seqüències augmenta amb el temps de divergència respecte d'un antecessor comú. Així, el comptatge de les diferències entre les seqüències hauria de permetre agrupar les que són més similars. Però la simplicitat d'aquest l'algoritme subestima la complexitat del problema d'inferència filogenètica (Holder & Lewis 2003). La taxa d'evolució de les seqüències no és constant al llarg del temps; per tant, una simple mesura de les diferències genètiques entre seqüències no és necessàriament una indicació fiable del temps de divergència. Tant la selecció natural com l'esbiaix en el canvi mutacional durant la història d'un organisme, poden ocasionar que el procés de divergència entre seqüències allunyades sigui més lent del que podríem esperar, o que esdevinguin, fins i tot, més similars (Swofford et al. 1996). Cal tenir en compte aquests factors a l'hora de realitzar les estimacions, però en molts mètodes

freqüentment utilitzats s'ignora sovint aquesta incertesa, i donen lloc a una sola estimació de l'arbre, que aleshores és considerada com a certa.

En el procés d'estimació cal tenir una base per triar un o més arbres preferits d'entre el conjunt de possibles filogènies. Els mètodes d'inferència filogenètica procuren assolir aquest objectiu de dues maneres diferents: 1) definint una seqüència específica de passos (un algoritme) que porta a la determinació d'un arbre (p.ex. mètodes basats en distàncies). 2) definint un criteri (criteri d'optimització) per tal de comparar filogènies alternatives i decidir quina és la millor, o bé, si són igualment bones.

A. Mètodes basats en distàncies

D'entre els diferents mètodes de distàncies, el més popular ha estat el de l'algoritme de *Neighbour Joining* o NJ (Saitou & Nei 1987, Studier & Keppler 1988). Aquests mètodes són relativament ràpids i tenen un bon rendiment si la divergència entre seqüències és baixa. En general, converteixen les seqüències en una matriu de distàncies que representa una estimació de la distància evolutiva entre seqüències. En el procés es comparen les seqüències dos a dos, s'estima el nombre de canvis per posició i es calcula la matriu a partir d'aquests valors. Aquest tipus de mètodes generen un sol arbre, que és el resultat de l'aplicació d'un l'algoritme a la matriu de distàncies, i no fan l'avaluació d'arbres alternatius. El principal desavantatge és que es perd informació al comprimir les seqüències en distàncies. A més, les diferències observades entre seqüències no són un reflex precís de les distàncies evolutives. Les substitucions múltiples en una mateixa posició comporten l'ocultació de la veritable distància i fan que les seqüències semblin artificialment properes. Les mesures de les distàncies poden ser corregides amb l'aplicació d'un model o d'una correcció de distància. Hi ha diversos models i cadascun implica una manera diferent de correcció (Nei & Kumar 2000). Un *Neighbour Joining* corregit pot ser útil per a grans grups de dades quan ens calen obtenir resultats ràpids, també com a arbre inicial per a cerques de màxima versemblança, o bé, per a estimar paràmetres de màxima versemblança. En resum, aquests mètodes són estimadors ràpids d'arbres filogenètics, que treballen raonablement bé quan les seqüències han divergit recentment. Però si l'objectiu és inferir relacions antigues, pot ser difícil arribar a valors fiables. Nosaltres no hem aplicat aquests mètodes en el nostre estudi.

B. Cerques amb el criteri d'optimització

Aquesta segona classe de mètodes segueix dos passos lògics. En un primer pas es defineix un criteri d'optimització (descriu formalment per una funció objectiva), per tal d'avaluar un arbre donat. En un segon pas s'utilitza un algoritme específic per calcular el valor de la funció objectiva i, així, trobar els arbres que tenen els millors valors,

d'acord amb aquest criteri. Es tracta de mètodes molt més lents, conseqüència d'haver de considerar tots els arbres possibles que resulten de la combinació dels tàxons en la matriu de dades, i valorar-los sota un criteri d'optimització per tal de trobar el "millor" arbre sota aquest criteri.

Els mètodes més emprats són el de màxima parsimònia (MP), el de màxima versemblança (ML) i el de inferència bayesiana (B); encara que hem de tenir en compte que aquest darrer mètode no realitza exactament una estimació del "millor" arbre, com veurem més endavant. La màxima parsimònia és un mètode no paramètric o, el que és el mateix, no es basa en un model explícit. En canvi, la màxima versemblança i la inferència bayesiana presenten una aproximació paramètrica a la filogènia estadística, ja que el seu criteri per evaluar una topologia es calcula en referència a un model evolutiu explícit. Cal no oblidar que tots els mètodes filogenètics fan suposicions, explícites o implícites, sobre el procés de substitució de DNA (Felsenstein 1988). Els criteris MP i ML basen el mostreig d'arbres en múltiples cerques d'arbres, mentre que la inferència bayesiana implementa el mètode de Markov Chain Monte Carlo.

B.1. Màxima parsimònia

La majoria de biòlegs estan familiaritzats amb el terme de parsimònia, que bàsicament manté que la hipòtesi més simple és la preferible. Els mètodes de MP equiparen la "simplicitat" amb l'explicació dels atributs compartits entre els tàxons, conseqüència de l'herència d'un antecessor comú (Sober 1989). El principi de la màxima parsimònia implica, doncs, la identificació d'una topologia que requereixi el menor nombre de canvis evolutius (p.ex. substitucions nucleotídiques) i que permeti explicar les diferències observades entre les diferents unitats d'estudi. Així, la millor hipòtesi és aquella que requereix el menor nombre de suposicions. S'utilitzen estats de caràcters discrets, i és el camí més curt que porta a aquests estats dels caràcters el que es tria com el millor arbre. Aquest arbre s'anomena arbre de màxima parsimònia; i sovint no se n'obté un de sol, sinó que diversos arbres poden presentar el mateix nombre mínim de canvis, aleshores diem que aquests arbres són igualment parsimoniosos. En general, existeixen algorismes prou ràpids que garanteixen que qualsevol arbre pugui ser valorat correctament (Farris 1970, Fitch 1971, Kluge & Farris 1969).

Malgrat tot, el mètode de màxima parsimònia té alguns desavantatges. D'una banda, el valor d'un arbre es troba totalment determinat pel mínim nombre de mutacions que hi ha entre totes les reconstruccions de les seqüències ancestrals. Sovint hi ha molts escenaris possibles que haurien pogut produir un grup de seqüències, però MP només considera una sola mapació mutacional com a guia. Això pot resultar enganyós quan l'objectiu és determinar quin arbre és el més factible,

perquè es desconeix el camí mutacional en l'arbre evolutiu és desconegut, i s'haurien de considerar tots els camins possibles que ens poden explicar les dades. MP també falla en no considerar el fet que el nombre de canvis és poc probable que sigui igual en totes les branques de l'arbre. Quan es calcula el valor de parsimònia d'un arbre, una mutació compta com un demèrit pel valor, independentment d'on tingui lloc. Els nucleòtids presents al final de branques llargues poden ser semblants, més com a resultat d'una evolució convergent que no pas per herència directa. En canvi, la parsimònia no admet el fenomen de convergència al llarg de branques llargues com una explicació de la semblança. Aquesta propietat fa que la parsimònia sigui més susceptible d'estar afectada pel fenomen d'atracció de branques llargues o *long-branch attraction* (Felsenstein 1978), que consisteix en el fet que dues branques llargues, que no són adjacents, en l'arbre veritable s'infereixen per parsimònia com a estretament relacionades. Aquest problema ja ha estat extensament discutit en diversos treballs (Huelsenbeck 1997, Siddall & Whiting 1999).

En general, podem afirmar que la parsimònia treballa bé mentre la quantitat de convergència sigui escassa, en comparació amb el nombre de mutacions que contenen informació útil. Diversos estudis demostren que, fins i tot, arbres amb abundant convergència poden ser inferits amb parsimònia, amb un bon nivell de precisió, si es disposa d'un mostreig intens de seqüències (Hillis 1996, Kim 1996). Aleshores, sota aquestes condicions, la valoració parsimoniosa dels arbres pot treballar bé (Holder & Lewis 2003).

B.2. Màxima versemblança (o *likelihood*)

Els mètodes de màxima versemblança aplicats a l'anàlisi filogenètica van ser desenvolupats per primera vegada per Cavalli-Sforza & Edwards (1967), i aplicats a dades nucleotídiques per Felsenstein (1981b).

El *likelihood* o estimador del màxim de versemblança d'un arbre filogenètic és la probabilitat d'observar les dades, quan es dóna un arbre i un model especificat de canvis d'estat dels caràcters, per exemple un patró de substitució. Així doncs, l'objectiu de la màxima versemblança és trobar l'arbre, d'entre tots els arbres possibles, amb el valor de *likelihood* o versemblança més alt; és a dir, el que mostri la probabilitat més gran de produir les seqüències observades. Per conveniència matemàtica, usualment el valor de *likelihood* és avaluat amb la transformació logarítmica. Així, es procedeix a calcular els valors de *likelihood* per tots els arbres possibles, i l'arbre amb el valor més alt es considera l'arbre de màxima versemblança, és a dir, la millor estimació filogenètica per al grup de dades estudiades. Amb aquesta aproximació, el càlcul de la probabilitat d'un grup de dades, donat un arbre filogenètic, necessita d'un model d'evolució de seqüències que descrigui la probabilitat relativa de diversos paràmetres.

En els darrers anys, s'han descrit diversos models d'evolució relativament generals, que no detallarem aquí (Huelsenbeck & Crandall 1997, Lewis 2001b). En tots aquests models, els paràmetres determinen aspectes del procés evolutiu, com poden ser, entre d'altres, les probabilitats relatives de transicions respecte transversions, o el grau amb el qual la taxa d'evolució difereix al llarg de les posicions. En el programa de Posada & Crandall (1998), la idoneïtat dels models es pot provar amb el LRT (*Likelihood Ratio Test*), que permet la comparació de models jerarquitzats (*nested*), i també amb l'*Akaike information Criterion* (o *minimum theoretical information criterion*, AIC), quan es comparen models sense el requeriment d'estar jerarquitzats (*nested*) (Akaike 1974). Els valors dels paràmetres involucrats en cada model s'estimen durant l'avaluació d'arbres, i els valors que donen el màxim *likelihood* es prenen com els valors apropiats per a ser usats. Encara que aquests models generals són més simples que el veritable procés subjacent a l'evolució de les seqüències, semblen ser relativament robustos/sòlids a la vulneració de les corresponents suposicions (Holder & Lewis 2003). Aquestes estimacions addicionals són l'obstacle principal per a l'ús de ML, ja que suposen un alt cost computacional.

Com ja hem esmentat, els mètodes que segueixen un criteri d'optimització presenten dos passos; primer, definir el criteri d'optimització i, segon, trobar l'arbre òptim. Aquest segon pas es realitza per mitjà d'uns algorismes de cerca (vegeu Swofford et al. 1996 per a més informació). Per grups petits de dades, es poden emprar els mètodes exactes, que examinen exhaustivament tots els arbres possibles i garanteixen trobar l'arbre o arbres òptims. Però la càrrega computacional pot ser molt gran quan es treballa amb un gran nombre de dades. Aleshores s'empren, com en el nostre cas a MP i ML, les cerques heurístiques que, a partir d'un arbre inicial construït per mitjà de l'addició seqüencial de tàxons (*stepwise addition*) realitza arranjaments successius de branca per trobar un arbre millor sota el criteri d'optimització triat. Encara que pot ser que no trobin l'arbre òptim, per a grups de dades grans els mètodes heurístics poden donar en menys temps resultats semblants a les cerques exactes. No esmentarem aquí els tipus d'arranjaments successius de branca, ni la resta de detalls de les cerques heurístiques, ja que aquests varien considerablement d'un programa a un altre.

B.3. Avaluació de la confiança a MP i ML

La debilitat principal dels mètodes descrits fins ara és que produeixen estimacions puntuals de la filogènia, és a dir, un arbre o conjunt d'arbres igualment òptims que són presos directament com a veritables. La qüestió immediata que sorgeix és el conèixer amb quina força les dades recolzen cadascuna de les relacions representades en l'arbre o arbres obtinguts. Les mesures de confiança juguen un paper molt important en la filogènia, especialment quan els arbres serveixen com a

marc conceptual per a l'estudi dels trets evolutius. Aquestes mesures responen a la nostra qüestió, ja que permeten identificar els arbres o parts d'arbres que es troben ben recolzades per les dades i són adequades per servir de base per a la inferència evolutiva dels sistemes biològics (Huelsenbeck et al. 2000, Lutzoni et al. 2001, Pagel & Lutzoni 2002).

D'entre les tècniques més esteses d'avaluació de la confiança, trobem les basades en el remostreig, que són aplicables a qualsevol mètode que utilitzi dades discretes (NJ, MP, ML); encara que no són les úniques tècniques que existeixen (p.ex. Goldman et al. 2000). En aquestes tècniques, la matriu de dades original és remostrejada a l'atzar, amb reposició (*Bootstrapping*) o sense (*Jackknife*), per tal de produir un conjunt de pseudorèpliques. El mètode de *Jackknife* (Efron 1979) té una demanda computacional més baixa, però tot i que hi ha mètodes per minimitzar els seus efectes (Farris et al. 1996), els resultats obtinguts estan afectats per la disminució de la proporció de dades remostrejades. Per això, un dels mètodes de confiança més freqüentment utilitzats en filogènia ha estat el *bootstrap* no paramètric, una tècnica estadística descrita per Efron (1979) i aplicada per primera vegada al problema de la filogènia per Felsenstein (1985). El *bootstrap* no paramètric en filogènia implica un remostreig a l'atzar, amb reposició, a partir de les dades originals, que permet generar matrius de pseudorèpliques de mida idèntica a la de la matriu original. Aquestes pseudorèpliques són aleshores sotmeses a les mateixes cerques filogenètiques que la matriu original. El recolzament de *bootstrap* per a un grup d'interès es calcula com la proporció de vegades que el grup és obtingut en les pseudorèpliques. La base lògica del remostreig de la matriu original és que la distribució de les pseudorèpliques al voltant de les dades observades es considera una aproximació vàlida de la distribució d'aquestes en el procés veritable i desconegut que genera el conjunt de dades (Efron 1979, Efron et al. 1996). En termes filogenètics, això suggereix que un grup monofilètic que rebi una proporció alta de *bootstrap* s'esperarà que es trobi en altres anàlisis de nous grups de dades que hagin estat generats pel mateix procés subjacent (Felsenstein 1985). És per aquesta raó que el *bootstrap* és a vegades descrit com una mesura de repetitivitat (Berry & Gascuel 1996, Felsenstein 1985, Hillis & Bull 1993).

La interpretació exacta de la proporció de *bootstrap* és difícil d'apreciar. És clar que els valors alts són millors, però cal conèixer quin és el punt de tall. Hillis & Bull (1993) han examinat el rendiment del *bootstrap* no paramètric com a mesura de precisió (*accuracy*) filogenètica, és a dir, la probabilitat que un determinat grup monofilètic aparegui en l'arbre veritable, i han trobat que les proporcions de *bootstrap* més grans del 50% subestimen aquesta precisió. En general, consideren que els valors >70% corresponen al 95% de l'interval de confiança. Aquestes apreciacions han portat a un debat sobre la interpretació de les proporcions de *bootstrap* (p.ex. Felsenstein & Kishino 1993, Li & Zharkikh 1994, Sanderson 1995, Newton 1996). Una

conclusió important que n'ha sorgit és que la precisió filogenètica segons Hillis & Bull (1993) no és quelcom que acostumi a ser examinat pel *bootstrap* i, a més, hi ha el perill que el *bootstrap* sobrestimi o subestimi la precisió filogenètica en funció de les condicions sota les quals s'han generat les dades (p.ex. Efron et al. 1996, Felsenstein & Kishino 1993). A més, l'error de tipus I, que és la quantitat que molts autors desitgen que el *bootstrap* reflecteixi, és només aproximat (Efron et al. 1996). Així, el *bootstrap* no paramètric s'ha usat com una mesura de tres quantitats (Berry & Gascuel 1996): 'repetitivitat', o probabilitat d'observar un determinat resultat en repetir un mostreig de la mateixa distribució de caràcters; 'precisió' (Hillis & Bull 1993), o probabilitat que un determinat grup monofilètic es presenti en l'arbre veritable; i 'error de tipus I' (Felsenstein & Kishino 1993), assumint un model nul de no monofiletisme. La justificació teòrica d'interpretar el *bootstrap* com una mesura de repetició és força sòlida, així que la major part del debat s'ha centrat en com pot ser de significatiu el *bootstrap* relacionat amb la precisió filogenètica i l'error de tipus I. Per tot això, és important no oblidar que les proporcions de *bootstrap* ajuden a predir si el mateix resultat serà obtingut en afegir més dades, i no si el resultat és correcte. El *bootstrap* no pot ser usat, doncs, per superar una anàlisi inadequada de les dades (Holder & Lewis 2003).

El principal problema d'aquest mètode d'estimació de la confiança és la càrrega computacional. L'esforç de càlcul requerit per a les anàlisis originals ha de ser repetit diversos centenars de vegades, fet que pot suposar un obstacle important, especialment quan s'utilitza ML.

B.4. Inferència bayesiana

Hem deixat per al final aquest mètode d'anàlisi, ja que presenta certes peculiaritats i, a diferència dels mètodes anteriors, no exigeix l'ús de les tècniques d'avaluació de la confiança. El mètode bayesià ha generat una gran interès, perquè proporciona alhora tant una estimació d'arbre com la mesura d'incertesa per als grups d'aquest arbre (la probabilitat posterior o PP).

L'aproximació bayesiana aplicada a la inferència filogenètica s'ha desenvolupat en els darrers anys (Huelsenbeck et al. 2001, Huelsenbeck & Ronquist 2001, Larget & Simon 1999, Li et al. 2000, Rannala & Yang 1996, Yang & Rannala 1997) i es troba estretament relacionada amb la màxima versemblança. En aquest mètode, els paràmetres com la topologia de l'arbre, la longitud de branca i els paràmetres de substitució es modelen com a distribucions de probabilitat. Les anàlisis bayesianes suposen per si mateixes una estimació de la probabilitat de que cada arbre particular sigui el veritable arbre evolutiu donades les dades observades; i la hipòtesi òptima és la que maximitza la probabilitat posterior, tenint en compte que la probabilitat posterior d'una hipòtesi és proporcional al *likelihood* o estimador del màxim de versemblança

multiplicat per la probabilitat de la distribució a priori (*prior*) d'aquesta hipòtesi. Cal especificar, doncs, un model i les distribucions a priori de la probabilitat i, aleshores, integrar el producte d'aquestes quantitats sobre tots els possibles valors dels paràmetres, per tal de determinar la probabilitat posterior de cada arbre. En molts casos les distribucions a priori de la probabilitat es consideren no informatives, de manera que la majoria de diferències en la probabilitat posterior de la hipòtesi són atribuïbles a diferències en el *likelihood*. La manera de fer-ho és especificant una distribució a priori uniforme (o *flat*), en el qual, a cada possible valor d'un paràmetre se li dona la mateixa probabilitat a priori.

Les funcions de *likelihood* per a models filogenètics són massa complexes per integrar-les analíticament, per això la inferència bayesiana es basa en l'algoritme de MCMC [=Markov Chain Monte Carlo] (Hastings 1970, Metropolis et al. 1953), un algoritme que s'usa per aproximar la distribució de probabilitats en una àmplia varietat de contexts. MCMC treballa seguint una sèrie de passos que formen una cadena conceptual. En cada pas, es proposa una nova localització en l'espai de paràmetres i se la considera el següent enllaç en la cadena. Aquesta localització proposada és semblant a l'actual, perquè es genera per pertorbació aleatòria d'uns pocs paràmetres en l'estat present de la cadena. Després, es calcula la densitat de la probabilitat posterior relativa en la nova posició, i si aquesta té una densitat de la probabilitat posterior superior a l'actual, aleshores s'accepta el moviment, la localització proposada esdevé el següent enllaç en la cadena, i el cicle es repeteix. Si la localització proposada es rebutja, l'actual localització és afegida al següent enllaç, i el cicle segueix. Repetint aquest procés milions de vegades, es crea una llarga cadena de posicions en l'espai paramètric. La posició pertinent en aquest espai és una descripció de l'arbre, i l'especificació de tots els paràmetres en el model d'evolució de les seqüències. D'aquesta manera, una cadena es construeix de manera que es desplaça a través de diferents arbres i models d'evolució. Al final de la cerca, s'obté una estimació de la probabilitat de que cada arbre particular sigui el veritable arbre evolutiu, donades les dades observades. Aquesta probabilitat depèn de l'adequació del model d'evolució i de les distribucions a priori en els paràmetres, però cal tenir en compte que representa una mesura intuïtiva de la quantitat de confiança de l'arbre.

A més de proporcionar més ràpidament mesures de recolzament que el *bootstrap* en ML, ja que suposa un mostreig d'arbres més gran en el mateix temps computacional, aquest nou mètode permet implementar models d'evolució complexos. Al mètode ML, encara que hi hagi prou dades per estimar molts paràmetres, els algoritmes heurístics que s'utilitzen poden ser lents i poc fiables a mida que el nombre de paràmetres augmenta. En canvi, el mètode bayesià es basa en un algoritme que no mira de trobar el punt més alt en l'espai de tots els paràmetres. No obstant això, el mostreig d'arbres produït per MCMC és altament correlacionat. Com a resultat, es

requereixen milions de cicles, mentre que, per a la majoria de problemes, són suficients menys rèpliques de *bootstrap*. Les distribucions a priori per als paràmetres s'han d'especificar, i pot ser difícil determinar si l'aproximació MCMC ha analitzat durant prou temps. Determinar, doncs, el temps necessari perquè una cadena arribi a produir una estimació fiable de la probabilitat posterior és una qüestió crucial.

No hi ha un consens clar sobre com han de ser interpretades les probabilitats posteriors, en relació als altres mètodes de recolzament (p.ex. Alfaro et al. 2003, Douady et al. 2003a, Holder & Lewis 2003, Suzuki et al. 2002, Wilcox et al. 2002). Segons Alfaro et al. (2003), les probabilitats posteriors bayesianes semblen tenir una sensibilitat més gran al senyal filogenètic. Però, en canvi, són més propenses que els *bootstrap*, especialment en ML, a assignar una alta confiança a internodes erronis, sobretot si són curts (Alfaro et al. 2003, Douady et al. 2003a, Erixon et al. 2003, Suzuki et al. 2002). Per altra banda, d'altres autors són partidaris dels valors de *bootstrap* o *Jackknife*, precisament a causa d'aquest excés de confiança detectat en la inferència bayesiana (Cummings et al. 2003, Simmons et al. 2004, Suzuki et al. 2002).

3.3.2.6. TRIA D'UNA APROXIMACIÓ DETERMINADA

La tria del criteri d'optimització ha estat llargament debatut en la bibliografia sobre filogènia (Kuhner & Felsenstein 1994, Huelsenbeck 1995, Farris et al. 1996, Swofford et al. 1996, Steel & Penny 2000, Swofford et al. 2001, Alfaro et al. 2003, Cummings et al. 2003, Huelsenbeck et al. 2002, Douady et al. 2003a, Leaché & Reeder 2002). Com ja hem comentat, i sense entrar en disquisicions, cadascun dels mètodes presenta avantatges i inconvenients. Així, MP és més susceptible als fenòmens de *long-branch attraction*; ML pot ser inconsistent quan es tria un model d'evolució inapropiat (Farris 1999) i, a més, exigeix una considerable demanda computacional; i la inferència bayesiana pot presentar la tendència a donar valors de recolzament alts a internodes incorrectes, especialment si són curts. En aquest treball, hem seguit la recomanació de Kolaczkowski & Thornton (2004), i hem mirat d'examinar empíricament, tant les anàlisis paramètriques com les no paramètriques en cada cas.

3.3.3. APROXIMACIÓ COMBINADA

Les qüestions filogenètiques poden ser investigades utilitzant dades de diferents fonts, com poden ser la morfologia i les seqüències de DNA. Però abans d'unir diferents grups de dades com a particions d'una mateixa matriu, la majoria d'autors

coincideixen en examinar la seva possibilitat de combinació. Els tests de congruència s'han utilitzat tradicionalment com a indicadors d'aquesta possibilitat de combinació. Aquest apartat ha estat desenvolupat en detall i discutit àmpliament en el capítol 5, on hem realitzat l'anàlisi combinada de dades morfològiques i moleculars.

3.4. COMPARACIÓ DE LA TAXONOMIA MORFOLÒGICA AMB LA FILOGÈNIA OBTINGUDA

Un cop inferida la hipòtesi filogenètica a partir de les dades que es tenen a l'abast, la filogènia s'assumeix com a una aproximació raonable de la història evolutiva dels tàxons involucrats. No hem d'oblidar, com ja hem esmentat, que l'arbre de caràcters i l'arbre de tàxons no tenen perquè ser el mateix (Maddison 1997, Hillis et al. 1996, Nichols 2001), i que la suposició que l'arbre filogenètic sigui conegut sense cap error, no és necessàriament correcta (Ronquist 2004).

Després d'aconseguir l'arbre filogenètic, hem mirat de comparar els resultats amb les idees prèvies basades en la taxonomia clàssica, i així, determinar si calia fer canvis en la sistemàtica per ajustar-la a la filogènia. En tots els casos, hem intentat conservar al màxim la taxonomia ja establerta, i que aquesta fos consistent amb la filogènia subjacent.

'Taxonomy is described sometimes as a science and sometimes as an art, but really it's a battleground'

Bill Bryson, 2003

CAPÍTOL 4

TAXONOMIA I MORFOLOGIA DEL GRUP DE *C. SAXICOLA*

4. TAXONOMIA I MORFOLOGIA DEL GRUP DE *C. SAXICOLA*

4.1. MATERIAL I MÈTODES

4.1.1. BIBLIOGRAFIA

En una primera fase d'aquest treball, s'ha abordat la recopilació d'informació bibliogràfica sobre la família *Teloschistaceae*, el gènere *Caloplaca* i, en especial, el subgènere *Gasparrinia* i grup de *C. saxicola*. S'ha realitzat un buidat bibliogràfic, que ha inclòs tant els treballs específics sobre el gènere, articles i obres bàsiques, com el control de les citacions dels tàxons estudiats, que es trobaven disperses en moltes obres d'abast més ampli, en general de caràcter florístic. Aquesta fase, ha estat de ràpida realització, gràcies a la informació ja recollida prèviament en la "Checklist dels líquens de la Península Ibèrica" (Llimona & Hladun 2001). Tota la bibliografia utilitzada ha quedat recollida en el capítol de referències bibliogràfiques.

4.1.2. MATERIAL ESTUDIAT

En molts dels treballs florístics de líquens hi podem trobar referències de diferents tàxons del gènere *Caloplaca*. Aquest gènere és un dels més ben representats en alguns d'aquests treballs, principalment els que tracten els líquens saxícolo-calcícoles, o bé, els líquens epífittics. Els exemplars estudiats pels diferents autors es troben majoritàriament dipositats en herbaris dels seus centres de recerca o, en alguns casos, en els herbaris particulars dels autors. Quan es pretén realitzar un estudi de revisió taxonòmica és important poder consultar la major quantitat possible de recol·leccions dels tàxons tractats, per a tenir una idea el més clara possible de la seva variabilitat. És per això que l'estudi del material d'herbari es fa imprescindible. També

és molt útil, sempre que sigui possible, veure el material viu en el camp. Per aquest motiu hem realitzat diverses recol·leccions. Finalment, un cop s'ha aclarit la delimitació dels diferents tàxons, és necessària la confirmació d'aquests amb l'estudi del material tipus. Sovint, pot ocórrer que, per una interpretació errònia, el concepte d'una espècie que tenen els autors actuals no coincideixi amb els caràcters del tipus.

Com a base del nostre treball, a part del material recol·lectat per nosaltres mateixos, hem utilitzat els exemplars dipositats a l'herbari (BCN) del Centre de Documentació de Biodiversitat Vegetal (CeDocBiV) de la Universitat de Barcelona, on es troba tot el material recol·lectat pels membres de l'equip de Liquenologia. També hem rebut en préstec els exemplars procedents de l'herbari de líquens de la Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme de Marsella (MARSSJ), on hi ha dipositats els herbaris de B. de Lesdain, G. Clauzade i C. Roux. Igualment hem rebut en préstec els procedents de diferents herbaris clàssics que s'especifiquen en les descripcions (B, BM, C, DUKE, E, G, GZU, H, L, LEB, LD, M, MIN, MUB, O, S, SANT, TFC Lich, UPS, VAB-LICH, VER, WU), i d'alguns herbaris personals (herbari Aptroot - ABL, herbari U. Arup, herbari J. Etayo, herbari Wirth, herbari P.v.d. Boom).

4.1.3. ESTUDI I DESCRIPCIÓ DE LES MOSTRES

Per a l'estudi dels diferents exemplars, hem utilitzat la metodologia clàssica emprada habitualment en la taxonomia de líquens, necessària per a una correcta identificació i descripció de les mostres. Aquesta inclou l'anàlisi detallada, tant de l'aspecte morfològic extern (macroscòpia), com de les característiques anatòmiques (microscòpia).

Per a aquest estudi, hem utilitzat diferent material òptic. L'aspecte extern l'hem examinat amb un estereomicroscopi, amb zoom de 6,6 a 40 augments, Nikon SMZ-10. L'anatomia l'hem estudiada amb un microscopi binocular Olympus CH-2, amb oculars de 10 augments i objectius de 4, 10, 40 i 100 augments, aquest últim d'immersió. Per a la realització de la iconografia dels diferents exemplars estudiats s'ha incorporat al microscopi una càmera clara de dibuix Olympus (1.25x). Les mesures s'han realitzat directament amb ajut d'una regleta micromètrica incorporada a un dels oculars del microscopi, o bé a partir dels dibuixos realitzats amb la càmera clara.

4.1.4. ESTUDI MACROSCÒPIC

Comprèn la descripció macroscòpica del tal·lus (p.ex. biotipus, color, dimensions) i dels ascomes (p.ex. forma, mida, posició, marge propi o tal·lí) i, quan és necessari, de les reaccions de canvi de color en el tal·lus i els apotecis, amb l'aplicació dels reactius habituals (p.ex. K, C, I). En l'estudi de les *Caloplaca* lobulades, ens hem fixat especialment en els següents caràcters:

Tal·lus.- Biotipus, morfologia (formació de rosetes o no, continuïtat o discontinuïtat del tal·lus, presència o absència de lòbuls marginals i de fissures o arèoles), dimensions (diàmetre), color (seguint la carta de color de Séguy 1936), existència i posició de pruïna, reacció de taca (afegint una petita gota de reactiu directament sobre el tal·lus).

Pel que fa a l'aspecte dels lòbuls, hem considerat les possibles variacions en la coloració respecte a la resta del tal·lus, el grau de desenvolupament i forma en general, la longitud (des de l'àpex fins a la part areolada o al centre del tal·lus, si no hi ha formació d'arèoles), l'amplada (part més eixamplada del lòbul), el grau de convexitat, la forma i el grau de ramificació, i el grau i forma d'aplicació al substrat. Cal tenir en compte, que la forma i l'estructura dels lòbuls marginals pot ser un caràcter variable, presumiblement depenent de l'edat dels individus i de l'hàbitat. Per altra banda, en el cas de les arèoles, grànuls o esquàmules de la part central de les rosetes, també hem tingut en compte la forma, la mida i el grau de convexitat. Finalment, hem examinat la presència de soralis (forma, mida i color), isidis (forma, presència o no de ramificacions) i pseudocifelles.

Apotecis.- N'hem descrit el tipus (segons Clauzade & Roux 1985, Dughi 1952) tenint en compte les diferents formes, les dimensions (diàmetre), la situació respecte el tal·lus o substrat, el grau d'agrupació i abundància (indicant si hi ha compressió mútua o no). Pel que fa al *disc*, també hem indicat la forma (pla, còncav o convex), que pot variar per raons de l'ontogènia de l'apotecí, el color, la presència o absència de pruïna, la textura i la reacció de taca amb K. En el *marge*, ens hem fixat en el color, el gruix, la diferenciació entre marge propi i tal·lí, la persistència i la prominència dels dos marges, la regularitat i també la presència de pruïna.

4.1.5. ESTUDI MICROSCÒPIC

En aquest apartat hem examinat al microscopi òptic seccions transversals, tant del tal·lus com dels apotecis. Amb l'ajut de la càmera clara per a dibuix incorporada al microscopi, hem dibuixat les principals estructures. En el control d'algunes de les estructures, com les ascospores, s'ha procurat disposar per a totes les mostres estudiades d'un nombre mínim de mesures (aproximadament 30), per tal de realitzar el seu estudi estadístic, i, així, disposar d'informació fiable i processable sobre la seva variabilitat. En el cas de disposar de mostres fresques, recol·lectades recentment pels autors o col·laboradors, hem procedit a tractar les seccions amb lactofenol-blau cotó. D'aquesta manera, les estructures adquireixen un aspecte comparable al que presenta el material d'herbari (Baral 1992). Les seccions les hem realitzat a mà alçada, amb l'ajut d'una fulla d'afaitar o d'un bisturí.

Les preparacions microscòpiques realitzades han estat les següents:

Preparacions per aixafament (squash).- Són apropiades només per a l'estudi de les estructures que no es deformen per aquest procediment, i que són bàsicament ascomàtiques: ascs, ascòspores i paràfisis. Hem muntat en aigua un fragment o secció gruixuda d'ascoma i, seguidament, l'hem aixafat aplicant una lleugera pressió sobre el cobreobjectes. Les mesures de les estructures les hem prè sempre en aigua. Els reactius o colorants han estat introduïts posteriorment, per capilaritat.

Preparacions de seccions primes.- Les hem realitzat per a l'estudi de les estructures anatòmiques. Els talls s'han fet a mà alçada sota la lupa binocular i han estat muntats en aigua.

Muntatges semipermanents.- Els hem preparat per a un estudi anatòmic més precís i per a l'emmagatzematge i conservació de les seccions, per a ser usades en possibles comparacions posteriors, confirmacions ràpides o, fins i tot, identificació. El colorant emprat ha estat lactofenol-blau de cotó, ja que proporciona un bon contrast per a la observació adequada de plectènquimes i hamateci, i constitueix, a més, un bon medi de muntatge semipermanent. La major part de dibuixos realitzats amb càmera clara els hem fet a partir de preparacions en aquest medi de muntatge.

Els caràcters que hem prè en consideració en la descripció anatòmica dels exemplars són els següents:

Tal·lus.- Hem tingut en compte el seu gruix en secció vertical, així com la presència i estructura de *còrtex superior*, en el qual també s'ha mesurat el gruix i s'ha descrit el tipus (vegeu apartat de caràcters estudiats), el grau de desenvolupament, la presència d'una part pigmentada o no i el color d'aquesta, la mida de la llum cel·lular, i

la presència de grànuls o de cristalls. Pel que fa a la *capa algal* hem comentat l'aspecte, és a dir, si es presentava contínua o discontinua o com s'agrupaven les algues, i el gruix. Del *fotobiont* hem esmentat el diàmetre de les cèl·lules. El fet de tractar-se sovint de mostres no vives afavoreix, en molts casos, que les cèl·lules algals es presentin deteriorades. De la *medul·la*, n'hem indicat el grau d'empaquetament de les hifes i el gruix d'aquestes.

Apotecis.- A partir de la secció vertical n'hem descrit les diferents parts observables al microscopi. De l'*epihimeni* hem indicat el gruix, el color, la presència de cristalls i la reacció amb K. De l'*himeni*, el gruix i el color, i del subhimeni i hipotecí, el color i també la disposició de les hifes en el segon. De la capa algal, la disposició de les cèl·lules. Del *parateci* hem detallat el gruix i grau de desenvolupament, i l'estructura de còrtex i medul·la. De les *paràfisis*, ens hem fixat en la seva septació, la ramificació, l'amplada de la base i l'àpex, el tipus de cèl·lules apicals i la presència de cristalls. Pel que fa als *ascos*, n'hem donat les dimensions, la forma i el número d'ascòspores. Per a la descripció de les *ascòspores*, ens hem fixat en la septació, el color, la forma, les dimensions i l'amplada de l'engruiximent equatorial. Per a les mesures de les ascòspores, hem indicat en cursiva la mitjana, entre els valors extrems després d'haver eliminat el 10% dels valors més alts i dels més baixos. Els valors absoluts més alts i més baixos són donats entre parèntesi.

4.1.6. REACTIUS QUÍMICS

La presència en els líquens de substàncies químiques derivades del metabolisme secundari, les anomenades substàncies líquèniques, té gran importància en taxonomia. Aquestes metabolits permeten constatar, en alguns casos, canvis de coloració en el tal·lus o apotecis, després d'haver-hi aplicat diferents reactius químics (Walker & James 1980). Els reactius més habituals emprats en líquenologia són:

K: Hidròxid potàssic en solució aquosa al 10%.- S'utilitza a causa de les reaccions acolorides que produeix amb determinades substàncies líquèniques. Principalment, dóna lloc a coloracions grogues, que poden virar a taronja, vermell o bru-vermellós, o bé, directament a porpra. Aquesta coloració porpra és característica dels tàxons amb tonalitats ataronjades de la família *Teloschistaceae*, i és deguda a la presència d'antraquinones. Aquesta reacció ha estat anotada, tant a nivell macroscòpic, sobre el tal·lus i apotecis, com en seccions examinades al microscopi. Cal tenir en compte que aquest reactiu té la capacitat d'hidratar i de distendre les diferents estructures microscòpiques, la qual cosa desaconsella el seu ús quan cal fer

mesures, que es realitzaran sempre en aigua. S'utilitza també com a tractament previ a l'ús del lugol (K-I), en l'estudi dels aparells apicals dels ascus al microscopi òptic.

C: Hipoclorit sòdic.- S'utilitza també en dissolució aquosa, com ara lleixiu comercial, que es fa servir sense diluir. Produeix coloracions macroscòpiques, ataronjades, carmí o rosades, principalment, amb determinades substàncies líquèniques.

KC.- Aplicació successiva dels dos reactius anteriors, que permet observar més clarament reaccions que amb C tan sols s'insinuen.

P: parafenilendiamina.- S'utilitza en solució alcohòlica saturada, que s'ha de preparar en el moment del seu ús, o bé, com a solució estable de Steiner. Les reaccions positives donen coloracions grogues, que poden virar a taronja o a vermell, o bé, són directament vermelles. Aquestes reaccions es presenten principalment en el còrtex i la medul·la del tal·lus, més rarament sobre els apotecis.

I: Lugol.- Solució de iode en iodur potàssic i aigua. Pot produir una coloració blau indi amb determinats polisacàrids fúngics (reacció amiloide), que es troben a les hifes del tal·lus o a l'himeni. La reacció amiloide de la gelatina himenial o de l'aparell apical de l'asc és una dada d'importància taxonòmica. Cal comprovar-la al microscopi.

N: Àcid nítric concentrat.- Produeix canvis de color en certes parts pigmentades dels líquens. També ha de ser controlada al microscopi.

Lactofenol - blau cotó.- S'ha emprat com a colorant per a realitzar tincions de determinades estructures. El lactofenol contrasta els teixits, mentre que el blau cotó, que s'acumula a l'interior de les cèl·lules, ofereix un contrast adequat. És útil per a visualitzar tot tipus d'estructures. A més, és un bon medi per al muntatge de preparacions semipermanents, com ja hem esmentat.

4.1.7. ICONOGRAFIA

Tots els dibuixos d'aquesta memòria són originals, realitzats amb l'ajut d'una càmera clara de dibuix incorporada al microscopi òptic. Els dibuixos ens han permès apreciar per comparació les diferències, més o menys subtils, entre els exemplars estudiats, i decidir després si corresponien o no a caràcters d'interès taxonòmic. Els dibuixos han estat passats a tinta i posteriorment escanejats per a poder ser incorporats a la memòria. Hem complementat la iconografia amb fotografies de l'aspecte macroscòpic dels tal·lus i apotecis dels tàxons estudiats. En general,

aquestes il·lustracions han de ser considerades un complement a la descripció dels corresponents tàxons.

4.1.8. IDENTIFICACIÓ

En una fase inicial d'identificació dels tàxons estudiats, hem utilitzat les principals obres de determinació de líquens (Ozenda & Clauzade 1970; Poelt 1969; Poelt & Vezda 1977, 1981; Clauzade & Roux 1985, 1987, 1989; Wirth 1995). Posteriorment, hem fet ús dels articles i treballs que feien referència al tàxon en qüestió, i que trobarem mencionats en els comentaris de cadascun d'ells. En els casos de determinació de tàxons nous, hem mirat de realitzar descripcions els més completes possibles.

4.2. CARÀCTERS ESTUDIATS EN EL GRUP DE *C. SAXICOLA* I ESPÈCIES PROPERES

4.2.1. INTRODUCCIÓ

Els principals caràcters morfològics útils per a l'estudi del gènere *Caloplaca* han estat ja discutits en detall per diversos autors, entre els que destaquem: Hansen *et al.* (1987), Kärnefelt (1989), Nordin (1972), Poelt & Hinteregger (1993), Wetmore & Kärnefelt (1998). En aquest apartat s'inclou un resum dels caràcters més importants, tant per les espècies del grup de *C. saxicola*, com pel subgènere *Gasparrinia*, el gènere *Caloplaca* o la família *Teloschistaceae*.

En el passat, les categories sistemàtiques es definien sovint a partir d'un únic caràcter com, per exemple, la forma de creixement, o el color o la septació de les espores. El resultat al qual s'arribava era el de classificacions molt heterogènies. Malgrat tot, en el cas concret de la família *Teloschistaceae*, la visió com a família homogènia, però amb representants de gairebé totes les formes de creixement, es acceptada ja en el segle XIX (Massalongo 1853a). Actualment, els criteris de classificació moderns acostumen a tenir en compte un conjunt de caràcters de natura diversa. En posem alguns exemples:

Estructura del tal·lus i forma de creixement. - Poelt (1973b) ens ofereix una discussió detallada del significat dels diversos caràcters morfològics.

Caràcters derivats de l'ascoma. - L'ontogènia de l'ascoma és essencial per distingir entre diversos grups que poden ser circumscrits per caràcters morfològics o anatòmics. Les característiques del disc, marge, exciple són bàsiques a l'hora de descriure les espècies. Les característiques de l'hamateci, entre les que destaquem el tipus de filaments interascals, són un altre caràcter emprat sovint en la delimitació de gèneres o, fins i tot, en nivells taxonòmics superiors (Kiliás 1981).

Caràcters derivats de l'asc. - Sobretot els referents a l'ultraestructura de l'aparell apical, que s'han emprat per delimitar grups de categories taxonòmiques diferents.

Caràcters de les espores. - Tot i que, a vegades, no tenen característiques que puguin ser considerades diferencials. La composició de la paret esporal és

important per diferenciar entre espores morfològicament semblants, però pertanyents a grups no relacionats entre ells. També és important el tipus de septació i la pigmentació.

Caràcters dels picnidis. - Picnidis i picnidiòspores han estat emprats com a caràcters de classificació des de Nylander (1861). El primer estudi sistemàtic basat en els picnidis i les picnidiòspores va ser publicat a finals del segle XIX (Glück 1899) i va ser reexaminat amb mitjans òptics moderns per Vobis (1980) i Vobis & Hawksworth (1981). Cal tenir en compte que no han de ser usats com a caràcters únics, ja que poden aparèixer tipus semblants en grups diferents.

Contingut en química de les substàncies líquèniques. - Pot ser útil per interpretar tant famílies com gèneres, i en certs casos també per categories taxonòmiques inferiors, sempre que hi hagi bona correlació amb els caràcters morfològics. Cal anar amb compte, ja que, per exemple, en el cas de molts líquens que contenen antraquinones s'havia suposat que només per aquesta raó pertanyien a la família *Teloschistaceae*. De fet, pigments del tipus de les antraquinones han aparegut durant l'evolució en diversos grups no relacionats entre ells. A més, cal tenir en compte que no totes les substàncies líquèniques tenen el mateix valor taxonòmic.

Caràcters ecològics i de distribució. - Poden ser d'ajut per a la separació de grups més naturals i, sobretot, els caràcters de l'àrea de distribució, corològics o biogeogràfics, són bàsics per a entendre alguns fenòmens evolutius.

Caràcters de tipus molecular. - L'ús de marcadors genètics per inferir la filogènia de les espècies s'ha convertit en una eina gairebé essencial per tal de definir grups més naturals. L'aproximació molecular pot posar de manifest situacions on la variació morfològica és limitada o on l'homologia dels caràcters morfològics no és clara. Aquests caràcters es tracten en els capítols XXX.

4.2.2. TAL·LUS

4.2.2.1. FORMA DE CREIXEMENT

En el gènere *Caloplaca* el tal·lus és extremadament variable. Pot variar entre endolític, indiferenciat, leprarioide, crustaci continu, fissurat-areolat, esquamulós (molt rarament), a placodioide (amb lòbuls al marge). Però també hi ha incloses a *Caloplaca* algunes espècies amb el tal·lus d'aspecte subfruticulós, que es caracteritza per la presència de lòbuls molt allargats que s'aixequen del substrat.

En el subgènere *Gasparrinia*, les espècies presenten tal·lus placodioides força ben desenvolupats, formats a la perifèria per lòbuls marginals clarament delimitats, i per arèoles planes, o més o menys convexes, poligonals o irregulars, a la part central del tal·lus. Els lòbuls es disposen fortament aplicats al substrat i donen al tal·lus una aparença plana i en forma de roseta. Aquestes rosetes poden créixer separatament o arribar a fusionar-se i formar un tal·lus més o menys continu. Els lòbuls tenen una estructura dorsiventral i sovint es ramifiquen, amb un grau de ramificació que varia segons les espècies. Es poden trobar exemples amb lòbuls totalment plans, per exemple *C. biatorina*, i d'altres amb lòbuls marcadament convexos, com *C. saxicola*. La longitud i l'amplada d'aquests lòbuls també és molt variable; com a casos extrems, trobem *C. saxicola*, que té els lòbuls molt poc aparents i, per altra banda, tenim representants amb lòbuls de gran llargada, com *C. thallincola*, o d'amplada considerable, com a *C. aurantia*. El gruix del tal·lus pot variar segons l'hàbitat en una mateixa espècie; sembla ser molt més prim en llocs ombrívols que no pas en zones exposades a la llum directa.

4.2.2.2. SUPERFÍCIE

4.2.2.2.1. COLOR

La coloració del tal·lus a *Caloplaca*, en la majoria dels casos, va del groc al taronja-rogenc o vermellós, i dóna aleshores una reacció K⁺ (porpra). Però tampoc són rares les espècies amb tal·lus de tonalitats blanquinoses, grises o negres que no presenten reacció amb potassa o, si la tenen, aquesta és molt dèbil (localitzada en els picnidis), degut a l'absència d'antraquinones en el tal·lus. En general, el color de les espècies que tenen antraquinones en el tal·lus pot anar lligat a la influència de l'ambient. Per exemple, certs tàxons que normalment tenen color típicament ataronjat poden agafar un color gairebé verd quan creixen en ambients ombrívols. Sovint, la variació en el color, apart de la diferent composició de les substàncies químiques, depèn també de la concentració que presenten en el còrtex.

Totes les espècies tractades en el nostre estudi tenen antraquinones en el tal·lus i en els apotecis, i el color que s'observa és un rang que va del groc al taronja-vermellós. A l'hora de descriure la coloració d'aquests tàxons, per a precisar millor el rang d'oscil·lació, s'ha utilitzat l'escala de colors de Séguy (1936).

4.2.2.2.2. PRUÏNA

Existeixen diferents teories sobre el significat ecològic de la pruïna. Així, Wadsten & Moberg (1985) suggereixen que la pruïna pot servir com una font de captació d'aigua en hàbitats secs; però d'altres autors opinen que pot tenir una funció protectora per al fotobiont en reduir els nivells de radiació (Büdel 1987, Ertl 1951, Jahns 1988, Kappen 1988). També se l'ha relacionat amb la defensa antiherbívora (Reutimann & Scheidegger 1987).

Wade (1965) considera que les espècies que creixen sobre substrats carbonatats sovint presenten un dipòsit d'oxalat càlcic en la superfície del tal·lus que els dóna una típica aparença pseudopruïnosa. Büdel & Scheidegger (1996) afirmen que la quantitat d'oxalat càlcic va lligada probablement a paràmetres ecològics, com són la presència d'oxalat en el substrat i a l'aridesa del microhàbitat. Segons les nostres observacions, la presència o absència de pruïna sembla ser, en molts casos, un caràcter específic que es presenta o no depenent del tàxon. Com a exemple il·lustratiu podem considerar el cas de *C. flavescens* i de *C. aurantia*. La pruïna falta totalment, o només es troba en els extrems dels lòbuls, a *C. flavescens* i, en canvi, es presenta de forma molt més abundant a *C. aurantia*. En aquests casos, doncs, és probable que la presència de pruïna sigui determinada per les característiques del còrtex d'ambdues espècies. En altres casos, per exemple *C. arnoldii* s.s., l'abundància de pruïna varia entre els diferents exemplars en funció de la seva localització i, tal i com afirmaven Wade (1965) i Büdel & Scheidegger (1996), del tipus de substrat. Probablement es tracta d'un caràcter relacionat tant amb factors ambientals (Poelt 1973b, Wadsten & Moberg 1985) com amb factors genètics. Abans de donar-li un valor taxonòmic considerem que cal haver observat un important nombre d'exemplars.

4.2.2.2.3. PSEUDOCIFEL·LES

La presència de pseudocifel·les és un caràcter excepcional en el gènere *Caloplaca*. S'ha observat només a *C. gomerana* (= *C. gloriae*) i a *C. rouxii*. El què si és més freqüent, és la tendència a presentar taques a la superfície, conseqüència de l'aprimament irregular del còrtex superior, el que pot recordar, en certs casos, l'aspecte de les pseudocifel·les.

4.2.3. ORGANITZACIÓ DE LES HIFES EN FALSOS TEIXITS

4.2.3.1. INTRODUCCIÓ

Els líquens tenen un gran varietat d'estructures anatòmiques i no és sorprenent que una terminologia extensa i, a vegades, confusa i contradictòria hagi estat utilitzada al llarg del darrer segle per tal de descriure-les. Existeixen diverses revisions i treballs que han abordat aquesta problemàtica de manera diferent (Barreno & Rico 1984, des Abbayes 1951, Hale 1976, Hannemann 1973, Henssen & Jahns 1974, Honegger 1998, 2001, Ozenda 1963, Smith 1921, Yoshimura & Shimada 1980). Com afirma Hale (1976), els caràcters anatòmics poden jugar un paper important a l'hora de redefinir els límits de gèneres i famílies, i cal que s'expressin d'una manera clara i inequívoca. En aquest apartat, sense afegir informació nova, s'intenta recollir i sistematitzar la terminologia més emprada per a descriure les estructures relacionades, especialment, amb l'organització dels falsos teixits líquènics.

Els falsos teixits que podem trobar en els tal·lus líquènics es componen d'hifes que s'orienten en varies direccions, s'agreguen, s'entrellacen de manera laxa, o bé es disposen densament fins a fer difícil el seu reconeixement, donant l'aparença d'una organització cel·lulada. Aquest tipus de falsos teixits ha rebut el nom de *plectènquima* (del llatí *plecto* = entrellaçat). Alguns autors (Hale 1983) només el consideren vàlid per a fongs no liquenificats i sostenen que la terminologia no es troba estandarditzada per als líquens, mentre que d'altres (Jahns 1988) l'empren igualment per a referir-se als teixits líquènics i parlen de plectènquima líquènic com a estructura bàsicament reticulada d'hifes ramificades i anastomitzades.

4.2.3.2. CARACTERITZACIÓ DELS TIPUS DE PLECTÈNQUIMES EN ELS LÍQUENS

Paraplectènquima (pseudoparènquima). - Es troba format per hifes amb cèl·lules arrodonides o més o menys isodiamètriques, de forma que les parets queden aplanades per la pressió amb les cèl·lules contigües, i resten conglutinades. Es poden donar dos tipus de paraplectènquimes. Si les cèl·lules són de parets primes, el paraplectènquima s'assembla a un parènquima amb cèl·lules isodiamètriques. En aquest tipus de fals teixit, no es pot detectar la direcció de cada una de les hifes, ja que estan íntimament unides i no es poden diferenciar. En canvi, en altres tipus de falsos teixits paraplectenquimàtics, les hifes acostumen a estar més o menys separades. En aquest últim tipus no es dona l'estructura isodiamètrica i les hifes individuals encara es poden diferenciar (vegeu més endavant la terminologia que hem emprat per a aquest segon tipus de paraplectènquima). Pot passar que, sobretot cap a la superfície del tal·lus, la paret de les cèl·lules es faci més gruixuda, es pigmenti

fortament, tal com passa en molts exciples, i les cèl·lules esdevinguin més irregulars. Quan té lloc aquest engruiximent de la paret cel·lular de les hifes corticals, Dahl (1952) utilitza el terme *platismoide*, i Ozenda (1963) parla d'estructura prosoplectenquimatosa.

Encara que Hale (1976) doni prioritat al terme paraplectènquima davant de pseudoparènquima, molts autors els consideren sinònims (Barreno & Rico 1984, Malcolm & Galloway 1997). No obstant, Purvis *et al.* (1992) els defineixen separatament: paraplectènquima és un teixit format per hifes de cèl·lules amb llum isodiamètrica, i pseudoparènquima el consideren també una estructura cel·lular formada a partir d'hifes, però no indiquen la forma de la llum.

Prosoplectènquima (=pseudocolènquima, siroplectènquima). - Frey (1936) l'anomena també plectènquima *strang* (madeixa). Aquest tipus consisteix en hifes periclinals, formades per cèl·lules allargades disposades en paral·lel, amb les parets de les cèl·lules inflades i totalment soldades entre elles (Jahns 1988). La paret, en general, es troba fortament gelatinitzada, és més gruixuda que en un paraplectènquima i, en alguns casos, la llum cel·lular es troba molt reduïda. Les hifes es poden disposar paral·leles entre elles, desordenadament entremesclades o en forma de xarxa, i amb una orientació variable, des de periclinal (=paral·lela) fins a anticlinal (=perpendicular) (Barreno & Rico 1984).

Kondratyuk & Kärnefelt (1997) fan una distinció; consideren que el prosoplectènquima està constituït per hifes més o menys paral·leles, amb la llum cel·lular estreta, i parlen de *pseudoprosoplectènquima* quan les hifes es disposen de forma més o menys irregular, amb la llum cel·lular delimitada per parets fortament gelatinitzades.

Escleroplectènquima. - Alguns autors consideren que aquest tipus de fals teixit és idèntic, o només un subtipus de prosoplectènquima (Barreno & Rico 1984, Hale 1976, Malcolm & Galloway 1997), però en el nostre treball, seguint a d'altres autors (Hannemann 1973, Jahns 1988, Purvis *et al.* 1992), considerem que és un tipus prou característic, i prou freqüent com per a considerar-lo a part. En la bibliografia líquenològica, aquest terme és emprat per a designar tots els conjunts complexos d'hifes que formen falsos teixits compactes, a resultes de l'inflament i compactació de les parets de les hifes (Ozenda 1963). Les cèl·lules poden ser tant curtes com llargues, irregulars o poligonals, i la disposició de les hifes, paral·lela o reticulada. La paret cel·lular és sempre gruixuda i sol ser difícil diferenciar les hifes. Es trobaria a mig camí entre un paraplectènquima i un prosoplectènquima típics.

Plectènquima en palissada (=teixit *fastigiat*). - Va ser descrit per primera vegada per Zokal (1895); i es tracta d'un fals teixit compactat, relativament comú en

les capes del còrtex, en contacte amb l'exterior, d'alguns macrolíquens com *Roccella* o *Pseudevernia* (Barreno & Rico 1984). És constituït per hifes curtes, disposades perpendicularment a la superfície (anticlinals), paral·leles entre elles o lleugerament entrellaçades, amb la paret visible, poc aglutinades i amb cèl·lules més o menys regulars, sovint cilíndriques.

Plectènquima medul·lar (=teixit aracnoide, *calaroplectènquima*, *siroplectènquima*). - No és un tipus de fals teixit típic i és possible que sigui el lloc principal on es realitzen les funcions metabòliques d'emmagatzematge i transmissió de glúcids (Hale 1976). En molt casos, no és considerat com un plectènquima, sinó només com un miceli simple, ja que està format per hifes més o menys lliures, d'orientació variable i entreteixides de manera que deixen grans espais buits (Barreno & Rico 1984).

Hannemann (1973) ordena tots aquests falsos teixits a partir de l'evolució que s'ha seguit en la seva formació. Així, a partir de la transformació d'un prosoplectènquima, s'haurien originat la major part de plectènquimes: palisadoplectènquima, paraplectènquima, escleroplectènquima, calaroplectènquima, seiroplectènquima. Hem de deixar a part l'estructura platismoide, que hauria aparegut a partir d'un paraplectènquima o d'un escleroplectènquima. En la transformació d'un paraplectènquima per a donar una estructura platismoide apareix una estructura intermèdia amb cèl·lules de llum encara ampla i parets engruixides, que recordaria a un escleroplectènquima de cèl·lules més o menys arrodonides. Hannemann (1973) no anomena aquesta estructura intermèdia. Finalment, cal afegir que distingeix també entre calaroplectènquima i seiroplectènquima; aquest darrer es caracteritzaria per tenir hifes disposades paral·lelament, amb cèl·lules de llum ampla, parets no engruixides i poc cohesionades.

Yoshimura & Shimada (1980) estableixen una classificació lleugerament diferent, amb una terminologia més extensa. Dins del grup de plectènquimes on no es diferencien les hifes separen, per una banda, *paraplectènquima* i *escleroplectènquima de tipus A*, ambdós caracteritzats per les cèl·lules isodiamètriques, de llum gran i de parets cel·lulars externes poc desenvolupades. En un *paraplectènquima* trobem cèl·lules polièdriques, de paret no engruixuda i en un *escleroplectènquima de tipus A*, cèl·lules arrodonides de parets engruixides. Aquest últim coincidiria amb el fals teixit intermedi no anomenat per Hannemann (1973). Per altra banda, també distingeixen entre un *escleroplectènquima de tipus B* i un fals teixit *platismoide*, ambdós caracteritzats per tenir cèl·lules entre arrodonides a més o menys allargades o irregulars, de llum estreta i parets fortament engruixides, amb parets cel·lulars externes desenvolupades per acumulació de material intercel·lular. En un *escleroplectènquima de tipus B* el teixit és hialí i en un *platismoide*, de coloració brunenca. En el grup de

plectènquimes on es distingeixen les hifes, aquests autors separen aquells falsos teixits que les presenten disposades en totes direccions: *calaroplectènquima*, amb parets hifals no unides, llum cel·lular ampla i espais intercel·lulars, i *prosoplectènquima*, amb paret unides i llum petita, sense espais intercel·lulars; dels que les tenen orientades en una sola direcció i més o menys paral·leles. En aquest darrer grup hi inclou els tipus *palissadoplectènquima* (plectènquima en palissada), *seiroplectènquima*, amb hifes de llum ampla i parets no engruixides, no fortament cohesionades, i *esclero-prosoplectènquima*, amb hifes de llum estreta i parets fortament engruixides, molt cohesionades.

En el nostre estudi, hem considerat que el tractament de Yoshimura & Shimada (1980) era el que més s'adeia amb les mostres estudiades. No obstant això, hem matisat algunes de les definicions dels tipus de falsos teixits, i hem introduït també algun terme nou. Els tipus d'organització que hem observat, principalment en el còrtex i en el marge dels apotecis, han estat els següents:

Paraplectènquima típic. - Hifes no visibles, cèl·lules polièdriques o arrodonides, amb llum cel·lular gran i paret no engruixida, totalment cohesionades i conglutinades, que donen l'aspecte d'un parènquima veritable. Poc freqüent en les *Caloplaca* estudiades.

Para-escleroplectènquima. - Direcció de les hifes no visible, cèl·lules més o menys arrodonides, de llum gran i amb paret d'engruiximent variable, més fina que en un escleroplectènquima típic, però sempre més gruixuda que en un paraplectènquima típic.

Escleroplectènquima de tipus A. - Direcció de les hifes poc visible, cèl·lules arrodonides, o predominantment isodiamètriques, amb la llum cel·lular de mida variable i la paret engruixida.

Escleroplectenquimàtic de tipus B. - Direcció de les hifes poc visible, cèl·lules irregularment allargades, amb llum estreta i paret fortament engruixida.

Esclero-prosoplectènquima. - Direcció de les hifes clarament visible, normalment disposades en una sola direcció, perpendiculars a la superfície. Amb les cèl·lules similars a les d'un escleroplectènquima de tipus B.

Prosoplectènquima. - Direcció de les hifes clarament visible, disposades en totes les direccions, amb llum petita i paret cel·lular de gruix variable, unides entre elles i amb pocs espais intercel·lulars.

4.2.4. CÒRTEX

Normalment el còrTEX es troba constituït estructuralment per diferents capes. Büdel & Lange (1994) assenyalen que aquestes capes poden aparèixer per la modificació del tal·lus deguda a factors ambientals, o bé, ser un caràcter específic:

EpicòrTEX. - És la capa més superficial. Es tracta d'un estrat sense cèl·lules, format per una capa fina de polisacàrids que recobreix la part externa del tal·lus, directament en contacte amb el medi (Hale 1976). Se li suposa la funció anàloga a la cutícula en plantes superiors. Hale (1981) i Jahns (1988) n'esmenten l'existència en algunes espècies de líquens i, en general, se li atribueix una funció de protecció enfront la irradiació i dessecació. Les espècies que en presenten acostumen a tenir porus i pseudocífelles per afavorir l'intercanvi gasós. Hi ha molts tàxons, però, que no en tenen i les cèl·lules fortament empaquetades de les hifes del còrTEX fan la funció de protecció (Barreno & Rico 1984). En els tàxons de *Caloplaca* estudiats no hem observat la presència d'epicòrTEX.

Capa epinecral. - Capa de gruix variable que consisteix en hifes i cèl·lules de fotobiont mortes, col·lapsades i sovint gelatinitzades. Büdel (1990) li assigna una funció de protecció contra les altes intensitats de radiació. En el nostre cas, determinats tàxons en presenten, especialment en el marge dels apotecis.

CòrTEX. - La majoria de líquens es troben protegits per una capa cortical de cèl·lules fúngiques, sovint ben diferenciada per la presència de pigmentació, situada a la part superior del tal·lus, i sota de l'epicòrTEX i de la capa epinecral, si aquests existeixen; constituint el que s'anomena còrTEX superior. A vegades, també se'n pot trobar a la cara inferior del tal·lus, formant el que es denomina còrTEX inferior. El seu gruix varia segons els tàxons i no sempre forma un estrat continu, sinó que pot quedar interromput per penetracions de la capa algal, o bé d'altres estructures més especialitzades. El còrTEX pot estar constituït per qualsevol tipus de plectènquima, i és molt freqüent que estigui pigmentat per diferents substàncies líquèniques; com per exemple, parietina, una substància molt abundant en molts tàxons de les *Teloschistaceae*, i que dona una coloració ataronjada al còrTEX d'aquestes espècies. Aquests pigments tenen una funció protectora per al líquen i absorbeixen bona part de la llum incident. La pigmentació normalment queda limitada a la paret de les cèl·lules més externes del còrTEX o es condensa en una capa intermèdia cap a la part superior del còrTEX (Esslinger 1977, Timdal 1991).

Kärnefelt (1989) ens fa notar que, en la majoria d'espècies de *Caloplaca* secció *Gasparrinia*, el còrTEX és un paraplectènquima amb hifes disposades anticlinalment, igual que en el gènere *Xanthoria*. En unes poques espècies, però, troba que està

format per un prosoplectènquima amb hifes disposades de forma més desorganitzada o periclinalment.

En els tàxons estudiats en el nostre treball, hem observat que el còrtex acostuma a presentar una part externa pigmentada i una part interna hialina. L'estructura del còrtex és més diversa entre les diferents espècies estudiades que no pas l'exposada per Kärnefelt (1989). Aquesta diversitat estructural inclou els diferents tipus d'organització d'hifes que hem descrit en l'apartat anterior.

4.2.5. MEDUL·LA

De forma general, a la capa medul·lar les hifes s'agrupen formant el que s'anomena plectènquima medul·lar, calaroplectènquima o, segons la terminologia de Honegger (2001), plectènquima laxament entreteixit. De forma excepcional, en alguns gèneres, hi podem trobar també un prosoplectènquima, un escleroplectènquima o un paraplectènquima. Si tenim en compte les característiques de la medul·la, amb gran quantitat d'espais aeris entre les hifes, aquesta poseeix una important capacitat per a emmagatzemar aigua i substàncies líquüiques, a més de cristalls d'oxalat càlcic, que es dipositen extracel·lularment en les parets de les hifes (Jahns 1973). Per a més informació sobre les característiques hidrofòbiques de les hifes medul·lars vegeu Honegger (1991) i Scheidegger (1994). És també en aquesta capa on es desenvolupen, en els primers estadis, els ascomes (Henssen *et al.* 1981, Letrouit-Galinou 1966, Ozenda & Clauzade 1970). El gruix de la medul·la varia segons els tàxons encara que, en general, es tracta d'una capa comparativament més gruixuda que la resta de capes que constitueixen el tal·lus. Es troba delimitada en la part superior per la capa algal, o pel còrtex superior si la primera és discontinua, i en la part inferior, pel substrat, en el cas de líquens crustacis com *Caloplaca*, i pel còrtex inferior, en els foliacis.

En les espècies que hem estudiat en aquesta tesi, la medul·la és normalment de tipus calaroplectenquimàtic i presenta un aspecte variable, sobretot pel fa que al grau d'empaquetament de les hifes. Les hifes, en certs casos, estan formades per cèl·lules allargades i es troben escassament ramificades, o en altres tenen cèl·lules curtes, arrodonides o més o menys irregulars i, aleshores, les ramificacions són freqüents. Quan les hifes estan formades per cèl·lules allargades són més fàcils de seguir, i sovint es disposen en feixos que travessen la capa algal, i poden arribar fins al còrtex. En el cas d'hifes amb cèl·lules curtes la orientació no està definida, es troben entreteixides de manera que es fa difícil distingir-les, i poden arribar a tenir un grau d'empaquetament considerable, deixant poc espai entre elles. En general, aquesta

tipologia es va repetint en la família *Teloschistaceae*, amb l'excepció del gènere *Fulgensia*, en el qual, degut a l'alt contingut en cristalls, moltes espècies presenten una anatomia del tal·lus molt poc diferenciada.

Poelt & Romauch (1977) suggereixen diferències estructurals en el còrtex, la capa algal i la medul·la, relacionades amb l'ecologia de les espècies. Segons aquests autors, els tàxons crustacis que creixen en roques costaneres exposades, presenten en general les hifes més empaquetades. Per això, aquestes s'agrupen formant feixos que omplen la medul·la i divideixen la capa algal en glomèruls. Poelt & Romauch (1977) suposen que la presència d'aquestes estructures pot ser un caràcter genètic.

4.2.6. HIPOTAL·LUS (=LÍNIA HIPOTAL·LINA)

L'hipotal·lus és una estructura freqüent en els líquens crustacis. Consisteix en una capa fina d'hifes formades per cèl·lules més o menys irregulars, anastomitzades, i en la que no hi ha algues. La natura del substrat és un factor que ha demostrat ser important en el desenvolupament d'aquesta capa (Weber 1977). En efecte, sobre substrats durs apareix més desenvolupada que sobre substrats tous, i es considera que té un paper important en la colonització del substrat. En aquest estudi hem observat la presència d'hipotal·lus en tàxons que creixen sobre substrats principalment silícics. L'aspecte és aracnoide, fimbriat, sovint densament ramificat i, normalment, del mateix color que el tal·lus.

4.2.7. CAPA ALGAL

Es tracta de la capa dominada per la presència d'algues. La seva posició varia segons els gèneres, i va lligada a una intensitat lumínica suficient, per la qual cosa acostuma a estar immediatament per sota del còrtex superior. El gruix és variable, un fet que ha estat interpretat per molts autors com una adaptació ambiental. En ambients exposats i secs acostuma a ser més gruixuda que no pas en ambients més ombrívols i humits.

La identificació del fotobiont és força complicada. No arriba a un 2% dels líquens on ha estat identificat al nivell d'espècie, i sovint no es coneix ni tan sols el gènere al qual pertany. Malgrat tot, hi ha un gènere força freqüent, *Trebouxia*, que comprèn aproximadament unes 20 espècies, i que és el fotobiont d'un 50% dels ascomicets

liquenificats. De fet, es tracta d'un gènere que es troba rarament fora de la simbiosi liquènica (Honegger 2001). És precisament *Trebouxia*, o gèneres propers d'algues, els coneguts de les *Teloschistaceae*, d'entre les quals només es coneixen aïllaments d'algues a partir de *Xanthoria* i d'unes poques espècies de *Caloplaca* (Ahmadjian 1993, Meier *et al.* 2002, Tschermack-Woess 1988).

La identificació de l'alga és difícil sense l'aïllament i el cultiu, però a l'estudiar al microscopi les seccions del tal·lus, es poden observar en les cèl·lules de les algues diferències en el diàmetre, en la forma del plast, i en la mida i nombre de pirenoïdes. Amb aquestes observacions, podem concloure que els fotobionts del grup d'espècies estudiades són clorococcal, unicel·lulars, més o menys esfèrics o irregulars, degut a la compressió mútua, que presenten un sol pirenoïde i un diàmetre que pot arribar al voltant dels 30 µm. La seva identitat no s'ha estudiat, però d'acord amb Ahmadjian (1993), pertanyen al gènere *Trebouxia*. La capa algal té un gruix variable, fins i tot en un mateix individu; pot formar una capa contínua, regular o irregular, o discontinua, amb glomèruls separats per feixos d'hifes perpendiculars a la capa algal.

4.2.8. ESTRUCTURES REPRODUCTORES

4.2.8.1. DISPERSIÓ VEGETATIVA

Com a conseqüència de la simbiosi, els líquens posseeixen estructures vegetatives úniques que són difícilment comparables amb les d'altres representants del món vegetal. El fet que presentin estructures vegetatives comunes, i aparentment homòlogues en tots ells, podria fer pensar que conformen un grup natural. Però, amb l'estudi detallat de la majoria d'aquestes estructures, s'ha pogut observar que realment són anàlogues, no pas homòlogues, i que s'han desenvolupat de forma independent en cada grup (Hannemann 1973). Per tant, és probable que siguin el resultat d'una evolució convergent a partir de diferents grups d'ascomicets (Barreno & Rico 1984).

4.2.8.1.1. Isidis

Un veritable *isidi*, segons Kirk *et al.* (2001), es defineix com una protuberància que es forma sobre la superfície del líquen, que està revestida pel còrtex, i que conté hifes i algues mesclades en el seu interior. Segons la forma que prenen, poden ser cilíndrics, clavats, esquamosos, verrucosos, coral·loïdes; simples o ramificats. Normalment la seva coloració és més fosca, almenys a l'apex, que la del tal·lus. Du

Rietz (1924) en va descriure diversos tipus morfològics que no descriurem aquí (vegeu Barreno & Rico 1984 per a una revisió).

Les espècies isidiades són menys freqüents en el gènere *Caloplaca* que no pas les sorediades. Se'n coneixen uns pocs exemples, com: *C. granulosa* (Müll. Arg.) Jatta, *C. herbidella* (Nyl.) H. Magn., *C. isidiosa* (Vain.) Zahlbr., *C. littorea* Tavares, *C. namibensis* Kärnefelt i *C. verruculifera* (Vain.) Zahlbr. D'aquestes espècies, *C. granulosa*, *C. littorea* i *C. verruculifera* tenen tal·lus lobulats. En el cas de *C. granulosa* els *isidis* tenen aspecte de grànuls, a *C. littorea* són simples o coral·loides, i a *C. verruculifera* són verrucosos.

4.2.8.1.2. Soredis

Segons Kirk et al (2001) els *soralis* són porcions decorticades de tal·lus liquènic, on s'acumulen els *soredis*. Normalment, els *soralis* estan formats per teixits medul·lars que afloren a través del còrtex, raó per la qual presenten unes característiques químiques que concorden més amb les de la medul·la que no pas amb les del còrtex. Els *soredis* són petits cossos globulosos formats per unes poques cèl·lules algals més o menys densament envoltades d'hifes, que en conjunt formen una massa granulosa, hidròfuga, i que, probablement, també juguen un paper en l'aireació del tal·lus (Jahns 1988). Els *soredis* són les estructures relacionades amb la reproducció vegetativa que apareixen amb més freqüència en el gènere *Caloplaca*.

Els *soralis* poden ser ben delimitats o difusos, i es poden classificar segons el lloc on s'originen. En alguns gèneres poden aparèixer en prominències o fissures. També els podem trobar a l'àpex dels *isidis* i, en alguns tàxons, els *soralis* poden contenir una barreja de *soredis* i d'estructures amb aspecte d'*isidi*. Es desenvolupen especialment bé en ambients humits i ombrívols. De fet, les superfícies de roca ombrívols són amplament colonitzades per líquens sorediats. Va ser Du Rietz (1924) qui va constatar el valor taxonòmic dels *soralis* a nivell específic, i en va delimitar clarament els diferents tipus, que va considerar constants en cada espècie (vegeu revisió a Barreno & Rico 1984).

El tipus de *soralis* més abundant en el gènere *Caloplaca* és el maculiforme, encara que també en trobem de rimiformes. Sovint, els maculiformes esdevenen progressivament confluents, i donen una aparença uniformement sorediada a la major part del tal·lus. Entre les *Caloplaca* sorediades hi trobem espècies ben conegudes: *C. cirrochroa* (Ach.) Th. Fr., *C. citrina* (Hoffm.) Th. Fr., *C. chrysophthalma* Degel., *C. decipiens* (Arnold) Jatta, *C. obliterans* (Nyl.) Jatta, *C. teicholyta* (Ach.) Steiner i *C. tominii* Sav. D'entre les espècies estudiades, destaquem algunes que presenten

diferents formes de *soralis*: a *C. decipiens* es disposen al centre del tal·lus, són grans i més o menys continus, si bé al principi són crateriformes o allargats, a *C. cirrochroa* i *C. obliterans* són de dimensions molt més petites, i a *C. teicholyta* són difusos.

4.2.8.1.3. Altres estructures

A part dels *isidis* i *soralis*, hi ha també altres tipus d'estructures vegetatives implicades en la reproducció; en destaquem algunes: *blastidis*, *fil·lidis* i *esquizidis*.

Els *blastidis* estan formats per còrtex i medul·la, i són més o menys irregulars i del mateix color del tal·lus. Segons Poelt & Petutschnig (1992) un *blastidi* pot produir-ne de nous per una mena de gemmació, amb posterior formació de constriccions. En canvi, els *soredis* en sentit estricte estan desproveïts de còrtex i es troben menys pigmentats que el tal·lus. Poelt & Petutschnig (1992) van detallar les diferències estructurals que existeixen entre els *blastidis* i els *soredis*.

Els *fil·lidis* són propàguls en forma laminar o d'esquama que presenten una estructura dorsiventral, però que només tenen còrtex en la cara superior. Normalment, presenten una constricció en el punt de contacte amb el tal·lus (Poelt 1980).

Els *esquizidis* són una altre tipus de propàguls formats només per les capes superiors del tal·lus, que es desprenen en segments amb forma d'esquama. En el cas de les *Teloschistaceae* són típics d'algunes espècies de *Fulgensia*.

4.2.8.2. APOTECIS

4.2.8.2.1. Tipus d'apotecis

Els apotecis són el tipus d'ascoma típic de les *Teloschistales*. És l'estructura encarregada de produir els ascus, o esporangis dels ascomicets. Va ser Dughi (1952) qui en un estudi detallat sobre l'origen i desenvolupament dels marges de l'apotecí, va establir la diferenciació dels diversos tipus d'apotecis a partir de la formació i estructura dels marges. Podem trobar una recopilació esquemàtica d'aquesta classificació a Sheard (1967). En destaquem aquí algunes de les definicions que hem emprat en el nostre estudi:

Apotecis lecideïns. - Són apotecis només amb marge propi format per hifes fastigades, acolorides més o menys intensament, amb llum cel·lular reduïda.

Apotecis pseudolecanorins. - Apotecis només amb marge propi, com el d'un apotecí lecidei de color clar (biatorí), que pot contenir ocasionalment cèl·lules algals.

Apotecis criptolecanorins. - Apotecis immersos en el tal·lus del líquen, en els quals el marge propi és hialí o està feblement acolorit.

Apotecis lecanorins. - Són els apotecis que Dughi (1952) anomena eulecanorins, i que es caracteritzen per presentar un marge tal·lí, constituït per un veritable tal·lus de neoformació, amb una organització semblant a la del tal·lus típic.

Apotecis zeorins. - En aquest treball, seguint a Clauzade & Roux (1985), hem preferit diferenciar també entre apotecis lecanorins i zeorins. Els apotecis zeorins són aquells que estan envoltats d'un marge tal·lí (o amfiteci) i un marge propi (o parateci), tots dos visibles macroscòpicament. Per contra, als apotecis lecanorins no es diferencia cap marge propi, ja que el parateci, si bé en alguns casos és visible en secció, no arriba a la superfície de l'apotecí.

A *Caloplaca*, els apotecis presenten una variabilitat important; podem trobar apotecis zeorins, lecanorins, pseudolecanorins, criptolecanorins i, fins i tot, exemples d'apotecis lecideïns i biatorins (sensu Clauzade & Roux 1985). En els tàxons examinats en aquest estudi, predominen els apotecis de tipus pseudolecanorí, seguits dels tipus lecanorí i zeorí.

4.2.8.2.2. Parts de l'apotecí

A continuació destaquem les característiques que hem observat en les diferents parts de l'apotecí, referides principalment al grup objecte d'estudi.

Disc. - El disc pot ser còncav, pla o convex, de coloració variable entre groc i taronja vermellós, normalment és més fosc que el tal·lus, i en certs casos, pot estar cobert de pruïna. La forma del disc acostuma a ser arrodonida, tot i que sovint es veu deformat per compressió mútua amb els apotecis veïns. La mida és variable i, a vegades, apareixen apotecis extremadament grans.

Parateci (o marge propi). - És més o menys visible macroscòpicament, llis, i en general, té el mateix color que el disc. En secció s'observa que les hifes tenen una disposició radiada que emergeix de sota l'hipotecí i arriba a la superfície entre el marge tal·lí i l'himeni. Normalment, les hifes es disposen de forma irregular i amb una gradació d'estructura entre un prosoplectènquima sota l'hipotecí, fins als diferents tipus d'escleroplectènquimes, a les parts superiors més externes del marge propi (vegeu apartat 2.2.2.). A vegades es pot arribar a formar, fins i tot, un paraplectènquima típic.

El parateci és sempre hialí, llevat de la capa més superficial, i el seu gruix, en general, varia entre els diferents tàxons.

Amfiteci (o marge tal·lí). - Normalment té en superfície el mateix color del tal·lus, i pot ser llis o rugós. És freqüent que, amb el creixement del parateci, el marge tal·lí sigui empès cap a la base de l'apotecí, fins a no ser visible. En secció microscòpica, les cèl·lules del còrtex de l'amfiteci poden ser o no semblants, en funció de l'espècie, a les del còrtex típic del tal·lus. Les algues se situen prop del còrtex, però, a vegades, aquest s'aprima tant que la medul·la pot emergir a la superfície, com passa en alguns exemplars de *C. saxicola*.

Epihimeni. - Constitueix la capa superior pigmentada de l'himeni, té un gruix més o menys constant en gairebé totes les espècies, i la coloració pot variar del groc, taronja o vermell ferruginós fins al brunenc, i és sempre K+ (porpra).

Himeni. - És de gruix variable i sempre hialí, encara que pot presentar cristalls en alguns casos, i amb reacció I+ (blau). L'**hipotecí** és sempre prosoplectenquimàtic, hialí, i ocasionalment, pot presentar gotes lipídiques (inspers).

Capa algal. - S'observa una variació considerable en la posició de la capa algal de l'apotecí, fins i tot en una mateixa espècie. Aquest fet ja ha estat observat en altres *Caloplaca* (Poelt & Wunder 1967). La capa algal pot ser, igual que en el tal·lus, contínua o bé formar glomèruls separats per feixos d'hifes. Per sota de la capa algal les hifes es poden disposar de forma molt compacta, com en un paraplectènquima o un escleroplectènquima, o de forma més laxa, com en un calaroplectènquima.

Paràfisis. - Aquestes són sempre septades, simples o ramificades cap a l'apex (amb dues o tres branques); acostumen a dilatar-se gradualment, a partir de les tres o quatre cèl·lules terminals (claviformes), o bé presenten totes les cèl·lules igualment dilatades i constrictes als septes (submoniliformes, moniliformes o en rosari). Sovint, és la cèl·lula apical l'única clarament dilatada (paràfisis capitades).

4.2.8.3. ASCS

Degut al valor informatiu dels seus caràcters, els asc s han rebut una especial atenció en estudis ultraestructurals amb TEM (Microscopi Electrònic de Transmissió) i SEM (Microscopi Electrònic de Rastreig). Pel que fa als asc s dels líquens, podem trobar referències generals en diversos treballs (p.ex. Bellemère & Letrouit-Galinou 1981, 1982, 1987, Bellemère *et al.* 1986, Honegger 1978, 1982a, 1982b, 1983).

A partir d'aquests estudis de microscopia electrònica, hom ha reconegut diversos tipus d'estructures d'asc s i de dehiscència que, tot i la seva importància, no han arribat

a provocar grans canvis sistemàtics (p.ex. Bellemère 1977, Bellemère & Letrouit-Galinou 1987). L'estructura de la paret asc, especialment a l'apex, ha estat un dels caràcters més estudiats. Els àpexs varien molt segons els tàxons, i aquestes variacions serveixen com a característiques usades en sistemàtica (Bellemère & Letrouit-Galinou 1987, Honegger 1982b). Per altra banda, la morfologia general i la disposició de les espores també són variables en els asc. Aquests caràcters també han suposat un criteri significatiu en sistemàtica, però com que els caràcters morfològics van apareixent al llarg del desenvolupament dels asc, només en els estadis que estan ben definits poden ser presos en consideració en fer comparacions de tipus sistemàtic. A part de les consideracions sistemàtiques, en les darreres dècades, l'estructura i el comportament de l'asc en l'alliberament de les ascòspores han estat objecte de diverses especulacions filogenètiques i evolutives (p.ex. Persoh *et al.* 2004).

La diversitat dels aparells apicals dels asc observada amb microscopi òptic (Chadefaud *et al.* 1963) ha estat confirmada amb TEM. Bellemère & Letrouit-Galinou (1987) ordenen aquesta diversitat en tres grups: arqueascat, bitunicat i unitunicat. Dins el grup arqueascat inclouen el tipus *Teloschistes* (Honegger 1978), que es caracteritza per un engruiximent subapical amb diferenciacions de polisacàrids estratificats i un casquet apical que es forma per la invasió de les capes parietals d'una substància polisacàridica (Bellemère & Letrouit-Galinou 1981, 1982, Honegger 1978). Letrouit-Galinou (1973) es refereix al tipus *Teloschistes* amb el terme de prearqueascat.

Els asc de diferents espècies de l'ordre *Teloschistales* han estat estudiats per Chadefaud (1969, 1973), Henssen & Jahns (1974), Letrouit-Galinou (1973), Magne (1946) i Richardson (1970). Tots aquests autors van observar la zona en forma de casquet (*cap-like*), fortament amiloide, a l'apex de l'asc. Honegger (1978) observa al microscopi òptic que la paret de l'asc no amiloide està envoltada per una capa externa amiloide, engruixida apicalment; i també que el tolus apical consisteix en una part interna no amiloide, i una part externa fortament amiloide. Bellemère (1994) parla de dues capes en la paret de l'asc, l'exo- i l'endoasc, també observables al microscopi òptic. L'exoasc pot estar externament recobert per l'anomenada gelina (revestiment gelatinitzat mal delimitat).

Amb TEM, sembla que l'estructura de la paret dels asc és més complexa. Segons Bellemère (1994) en una paret d'asc gruixuda es poden diferenciar fins a quatre capes. En el tipus *Teloschistes*, la cambra apical presenta un aspecte característic, és gran i molt convexa en l'apex, i s'estreny a nivell de l'engruiximent subapical. Una invaginació subapical, que està més o menys desenvolupada segons les espècies, és nítida a *Teloschistes*, però molt reduïda a *Apatoplaca* i *Caloplaca*, i separa l'engruiximent subapical (*bourrelet*) de l'epiplasma. Hi ha també un plec

(=sinus) més o menys ben marcat que separa aquestes dues parts de l'engruiximent. La cambra ocular és la part de l'epiplasma que està envoltada per aquest engruiximent subapical (Bellemère *et al.* 1986).

Bellemère *et al.* (1986) confirmen amb l'estudi ultraestructural d'*Apatoplaca* que els asc i les ascòspores són del tipus *Teloschistes*; i també confirmen que el gènere *Letrouitia*, relacionat amb *Teloschistes* per la semblança de l'estructura de la paret ascal i de la capa externa (Hafellner & Bellemère 1981a), es diferencia de les *Teloschistaceae* per l'àpex dels asc. Aquests no s'estreten pas a l'àpex i posseeixen un engruiximent en forma de campana, típicament apical, diferent de la formació anular subapical de tipus *Teloschistes*. A l'incloure les *Teloschistaceae* i *Letrouitiaceae* en un mateix ordre o subordre, es van agrupar dues famílies amb asc que presenten tipus de dehiscència anàlogues, però estructures apicals una mica diferents.

Es posseeix poca informació sobre la dehiscència de l'asc en el tipus *Teloschistes*. En microscopia òptica, les dades són contradictòries, mentre Chadefaud (1960, 1973) i Letrouit-Galinou (1973) consideren una dehiscència bivalve a *C. aurantia* i *C. variabilis*, Richardson (1970) representa una estructura anular a *Xanthoria*. En aquest mateix gènere, Honegger (1978) mostra, per microscopia electrònica de transmissió, que durant la dehiscència no hi ha ni separació de les diferents parts de la paret ni del tolus. Sembla quedar confirmat, doncs, que la dehiscència dels asc de tipus *Teloschistes* és precedida d'un allargament simultani de les capes de la paret de l'àpex, les quals es mantenen soldades. Segons Honegger (1978), una peculiaritat del tipus *Teloschistes* és que, abans de l'alliberament de les espores, el material del tolus és estirat lleugerament per les espores de la part superior, que s'acumulen vers la cambra ocular. Aleshores la paret, que esdevé més prima, es trenca per l'àpex i la part superior de l'asc pren una forma de xemeneia (tipus *Chimney-like*). Mitjançant aquesta elongació apical, l'àpex de l'asc assoleix la superfície de l'himeni on s'alliberaran les espores.

Bellemère & Letrouit-Galinou (1988) afirmen que la dehiscència ascal del tipus *Teloschistes* és només pròpia dels líquens. S'ha observat en totes les espècies de la família *Teloschistaceae* i en un gènere relacionat, *Fuscidea*. També es coneix en *Letrouitia* (Hafellner & Bellemère 1981a) i sembla ésser present en *Pertusaria*. Malgrat que en aquest darrer gènere l'elongació no és tan marcada.

L'asc tipus *Teloschistes* difereix considerablement dels tipus *Peltigera* i *Lecanora*. Ja que no hi ha un mecanisme especial d'expulsió d'espores, el tipus *Teloschistes* podria interpretar-se com a primitiu (Letrouit-Galinou 1973) o una modificació per reducció del tipus *Lecanora* (Magne 1946), per bé que hi ha una tercera interpretació. Segons Honegger (1978), pot ser que el tipus *Teloschistes* no estigui tan relacionat amb el tipus *Lecanora* com s'havia suposat generalment, i podria

haver evolucionat a partir d'un tipus ancestral bitunicat desconegut per reducció de la paret de l'asc primari fins a transformar-se en una capa difusa (*fuzzy coat*). A partir de les seves observacions sobre l'estructura de l'asc, Honegger (1978) afirma que es poden prendre poques conclusions al respecte de la posició filogenètica de les *Lecanorales*.

L'estudi ultraestructural de Bellemère & Letrouit-Galinou (1982) confirma que els gèneres *Caloplaca*, *Fulgensia* i *Xanthoria* tenen el mateix tipus d'asc (tipus *Teloschistes* sensu Honegger 1978) i que, en conseqüència, pertanyen a la família *Teloschistaceae* en el sentit de Poelt & Hafellner (1980a). Bellemère *et al.* (1986) analitzen els ascus madurs de *Teloschistes flavicans*, i constaten que aquests no arriben a la part superior de l'himeni, sinó que, poc abans de la seva dehiscència, la part superior s'allarga notablement portant l'àpex de l'asc al nivell de la superfície himenial. Per aquesta raó, prenen el característic aspecte de xemeneia. Aquesta dehiscència és homòloga a l'observada en *T. chrysophthalmus*, *Apatoplacea oblongula*, *Caloplaca marina*, *Fulgensia fulgens* i *Xanthoria parietina*. Només es constaten diferències mínimes en l'engruiximent o la reactivitat de diversos constituents de la paret.

Per tant, tant els ascus de *Caloplaca* com els del grup concret d'espècies que hem estudiat, tenen poc valor taxonòmic en aquest treball, ja que, com s'ha vist, es mostren molt constants en tota la família. Per aquest motiu no hem fet estudis ultraestructurals i ens hem centrat en la forma i les dimensions. En general, presenten aspecte claviforme i, majoritàriament, tenen 8 espores per asc.

4.2.8.4. ASCÒSPORES

Els diferents estadis de desenvolupament esporal, fàcilment definits a partir de l'estructura de la paret, han estat estudiats en detall per Bellemère & Letrouit-Galinou (1982) a partir de *Caloplaca marina*. De fet, el procés de desenvolupament de la paret esporal és força similar en tots els ascomicets, malgrat que no existeixi un consens entre els autors a l'hora d'anomenar les diferents capes, ni en la d'establir la seqüència del seu desenvolupament (Bellemère 1994).

Segons Bellemère *et al.* (1986), la ultraestructura de les ascòspores presenta grans analogies en totes les *Teloschistaceae*. Fins i tot, si les ascòspores no són polariloculars (cas de *Fulgensia* i *Apatoplacea*) s'hi distingeix, de fet, un inici d'engruiximent equatorial, d'origen endospòric. Quan les ascòspores de les *Teloschistaceae* estan septades transversalment, el septe es forma sempre tardanament, després del desenvolupament de l'engruiximent equatorial. Així, el desenvolupament del septe no interromp el creixement en gruix de la paret esporal.

Per aquest motiu les espores polariloculars de les *Teloschistaceae* són diferents de les *Physciaceae*, ja que, en aquestes, l'engruiximent equatorial es constitueix posteriorment a la formació del septe (Hafellner *et al.* 1979). La formació d'un engruiximent equatorial i la septació són, doncs, dos processos relativament independents l'un de l'altre. D'aquesta manera, certes *Caloplaca* presenten engruiximents sense septe (Hafellner & Poelt 1979), i algunes *Fulgensia* poden presentar espores septades amb engruiximents reduïts o nuls. L'engruiximent parietal de les ascòspores del tipus *Caloplaca* no és pas exclusiu de les *Teloschistaceae*, es pot trobar també a *Letrouitia*, on també es dona una certa independència entre la formació dels engruiximents equatorials i la septació.

Bellemère & Letrouit-Galinou (1982) es pregunten si la semblança en l'origen i en l'aspecte entre l'engruiximent equatorial de les ascòspores i l'engruiximent subapical dels ascs a les *Teloschistaceae* és l'índex d'una mateixa tendència evolutiva, que afectaria el conjunt dels processos de formació de les parets.

Mereix ésser destacat que, en la família *Teloschistaceae*, tan homogènia pel que fa als ascs, les ascòspores siguin tan variables. Es coneixen ascòspores pluriloculars (3 o 4 lòculs) i pluriseptades en certes *Caloplaca* (Hafellner & Poelt 1979), ascòspores amb engruiximent equatorial i septe únic (p.ex. *Caloplaca* típiques, *Xanthoria* i *Teloschistes*), i espores amb engruiximents només insinuats, simples (p.ex. *Fulgensia fulgens* o *C. nivalis*, que no arriba a diferenciar lòculs apicals separats). Pel que fa a l'ornamentació, trobem espores pràcticament sense ornamentació perisporal (p.ex. *Fulgensia fulgens*, *Caloplaca marina*, *Xanthoria parietina*), en altres només és esboçada (p.ex. *Teloschistes*), i en algun cas són més clarament ornamentades (p.ex. *C. decipiens*). El valor adaptatiu i la significació evolutiva d'aquesta variació pròpia de les ascòspores encara no es coneix (Bellemère *et al.* 1986).

En el gènere *Caloplaca*, les ascòspores són sempre hialines i, com s'ha vist, l'engruiximent equatorial és força variable. Les diverses espècies es diferencien entre elles no només per la forma i les dimensions, sinó també per la relació longitud/amplada de l'espóra, per l'amplada de l'engruiximent equatorial, i per la relació longitud de l'espóra/engruiximent equatorial, que constitueixen importants caràcters de diagnòsi per a la seva identificació.

En el grup d'espècies estudiades, les ascòspores són, en general, polariloculars, la seva forma varia entre estreta i amplament el·lipsoïdal, i el gruix del septe oscil·la entre 1-5 µm, i ocupa entre 1/2 i 1/4 de la llargada de l'espóra depenent dels tàxons. Tots aquests caràcters són força constants a nivell d'espècie i es pot considerar que tenen importància taxonòmica.

4.2.8.5. PICNIDIS

Kirk *et al.* (2001) defineixen els *picnidis* com un conidioma ostiolat (amb ostíol circular o longitudinal), amb la superfície interior recoberta parcialment o total de cèl·lules conidiògenes. Segons Hawksworth (1988), aproximadament unes 8000 de les 13000 espècies de líquens reconegudes presenten estructures productores de conidiomes. Malgrat la seva freqüència, probablement per la dificultat d'observació i estudi, han rebut poca atenció i, des del segle XIX, pocs treballs són de remarcar (Lindsay 1859, Lindsay 1872, Glück 1899), fins arribar al de Vobis (1980). La seva funció ha estat objecte de molt debat i de dubtes durant molts anys (Smith 1921, Steiner 1901). Alguns autors consideren que els conidis (=picnidiòspores) funcionen com a espermacis, i intervenen en el procés de reproducció sexual, ja que se'ls ha pogut observar adherits a les tricògines (Honegger 1984, Jahns 1970, Smith 1921, Steiner 1901), mentre que d'altres, consideren que actuen només com a diàspores (Vobis 1977). Ozenda & Clauzade (1970) suggereixen que és possible que els picnidis permetin la multiplicació vegetativa, com passa en els fongs lliures. Aquests dos darrers rols no són mútuament excloents. També se'ls ha considerat com a estructures vestigials, actualment desproveïdes de funció (Honegger 1984). Al voltant de la dècada dels 80 es va considerar que els conidiomes mereixien un estudi crític als diferents nivells de la jerarquia taxonòmica. És aleshores quan Vobis (1980) i Vobis & Hawksworth (1981) estudien l'ontogènia dels picnidis en diferents gèneres de la família *Teloschistaceae* (*Caloplaca*, *Teloschistes* i *Xanthoria*).

Es coneixen vuit tipus diferents de disposició de les cèl·lules conidiògenes i de conidiòfors (Vobis 1980, Vobis & Hawksworth 1981). D'aquests, en la família *Teloschistaceae*, hi trobem el tipus VIII (tipus *Xanthoria*), pluriloculat o amb multicambra (Honegger 1984, Vobis 1980, Vobis & Hawksworth 1981). Aquest tipus constitueix un dels caràcters que distingeix l'ordre *Teloschistales*. Malgrat tot, cal tenir en compte que Kiliás (1985) ha observat un altre tipus de conidioma desprovist de cambres a *Cephalophysis*, tipus que Kärnefelt (1989) torna a trobar a *Fulgensia* i a *loplaca*.

Els picnidis es presenten en moltes de les espècies que hem estudiat, normalment a les zones més joves del tal·lus. Al voltant de l'ostíol tenen pigments del mateix color que el tal·lus, o bé, són més foscos i, aleshores, tenen el color del disc dels apotecis. Les picnidiòspores que hem observat són el·lipsoïdals o bacil·lars; i en general, no presenten grans diferències entre les diverses espècies lobulades; tot i l'afirmació de Søchting & Arup (2002) que en el grup de *C. aurantia* són considerablement més llargues. En el nostre estudi, no hem detectat diferències significatives en la forma i mida de les picnidiòspores dels tàxons del grup de *C. saxicola*, raó per la qual no s'inclouen en les descripcions.

4.2.9. QUÍMICA

En general, se sap poc sobre el paper biològic de les substàncies liquèniques. En determinades ocasions, s'ha suggerit la possible funció de protecció davant l'herbivorisme (Hawksworth & Hill 1984, Lawrey 1983, 1986), però aquesta opció és improbable pel que fa a les antraquinones ja que, sovint, els tal·lus que en contenen són menjats. També s'ha contemplat la possibilitat que serveixin de filtres per protegir els fotobionts de la radiació excessiva (Elix 1996, Ertl 1951, Henssen & Jahns 1974). Rikkinen (1995) reforça aquesta hipòtesi i afirma que els cristalls d'antraquinones tenen un efecte important en la composició espectral de la llum que arriba al còrtex. Les antraquinones poden tenir un valor secundari en la protecció del tal·lus liquènic, filtrant la radiació ultravioleta excessiva (Elix 1996).

La presència d'antraquinones es dona en la majoria de tàxons de les *Teloschistales*, tant de les *Letroitiaceae* (Hafellner 1981) com de les *Teloschistaceae* (Bohman 1969, Hauschild *et al.* 1971, Santesson 1970a). D'aquesta manera, la composició de metabolits secundaris del gènere *Caloplaca* és remarcablement uniforme, caracteritzada pel domini d'antraquinones. Hauschild (1970) va realitzar anàlisis qualitatives i quantitatives detallades dels diferents tàxons d'aquest grup, amb antraquinones com a component principal, però només ho va publicar parcialment (Hauschild *et al.* 1971, Steiner & Hauschild 1970). També Nakano *et al.* (1972) descriuen algunes antraquinones del tal·lus de diferents *Caloplaca* sense identificar. Tanmateix, la major aportació al coneixement de les antraquinones a *Caloplaca* és la de Santesson (1970b), qui, amb l'estudi amb espectrometria de masses d'unes 230 espècies, reconeix 12 grups químics basats en la combinació d'antraquinones que es presenten als apotecis. Santesson (1970b) suggereix, en un esquema biogenètic, les possibles vies de síntesi i les interrelacions entre aquests 12 grups químics. Posteriorment, s'han realitzat altres estudis, referits als grups químics descrits per Santesson, però han permès afegir poca informació nova (p.ex. Arnold & Poelt 1995, Arup 1993b).

Entre les antraquinones del gènere *Caloplaca*, la parietina destaca com a component principal, es presenta en l'epihimeni de gairebé totes les espècies i en tots els tal·lus de color groc-taronja. Com a substàncies addicionals s'observen: emodina, telosquistina, fal·lacinol i àcid parietínic (síndrome A), en conjunt en una concentració molt petita (rarament superior al 6%) del total del contingut antraquinònic (Søchting 1997). Aquest autor ha treballat amb les quimiosíndromes (grups químics) de les antraquinones de la família *Teloschistaceae*, i afirma que el contingut en antraquinones varia enormement entre espècies, però que dins de cada tàxon la seva composició quantitativa es manté més o menys constant.

Darrerament, han aparegut nous estudis que han proporcionat un major coneixement d'aquests grups químics. Søchting (2001) descriu per a *Caloplaca* onze quimiosíndromes, que inclouen les antraquinones clorinades, 7-cloroemodina i fragilina. Aquest autor agrupa els quimiosíndromes en tres famílies, dominades per parietina, fragilina i 7-cloroemodina respectivament, i assenyala que la composició en substàncies líquèniques dels apotecis sovint difereix de la del tal·lus. Recentment, Søchting & Fröberg (2003) han aïllat de *Caloplaca asserigena* (Lahm) Oliv. una antraquinona única, no coneguda anteriorment en les *Teloschistaceae*, la identitat química de la qual encara no es coneix. Els quimiosíndromes del gènere *Teloschistes* han estat també extensament estudiats per Søchting & Frödén (2002), que hi detecten set antraquinones diferents.

En alguns membres de les *Teloschistaceae*, els pigments antraquinònics es presenten en petites quantitats o hi falten completament. Aquest és el cas de les espècies de *Caloplaca* caracteritzades per tenir apotecis negres (Wunder 1974), del gènere *Cephalophysis* i també de certs tàxons del gènere *Teloschistes*. Søchting (1997) afirma que les antraquinones es troben en la majoria de les espècies, i que si falten, cal considerar el fet com el resultat d'una pèrdua secundària.

A part d'antraquinones, hi ha només unes poques espècies que contenen àcid úsnic. Quatre d'aquestes van ser estudiades per Santesson (1970b): *C. carphinea* (Fr.) Jatta, *C. cuyabense* (Malme) Zahlbr., *C. limitosa* (Nyl.) Oliv. i *C. stenospora* (Malme) Zahlbr. Hi ha encara una cinquena espècie, *C. scoriophila* (Massal.) Zahlbr., propera a *C. carphinea*, que també en presenta. Santesson (1970b), en unes poques espècies de les *Caloplaca* examinades, a més, hi va detectar uns altres components; entre aquests hi va trobar atranorina, liquexantona i un component triclorat no identificat.

En el present treball, no hem realitzat cap estudi químic exhaustiu, ja que en un sondeig inicial entre les *Caloplaca* lobulades amb antraquinones, en les cromatografies realitzades (TLC i HPLC), no es van detectar diferències significatives, en especial en el grup de *C. saxicola*. Per això, la informació química que apareix en el text ha estat extreta de la bibliografia.

4.2.10. ECOLOGIA I DISTRIBUCIÓ

Les espècies del gènere *Caloplaca* poden créixer en una gran diversitat de d'ambients i condicions ecològiques que no detallarem aquí. En aquest apartat, fem especial esment a les preferències observades en els tàxons examinats en l'apartat de

taxonomia, i en la resta d'espècies lobulades que, fins ara, han estat considerades com a part de *Caloplaca* subgènere *Gasparrinia*.

4.2.10.1. SUBSTRAT

El grau d'especificitat envers el substrat de les *Caloplaca* és molt variable. Es poden trobar tant espècies extremadament selectives (p.ex. *C. thallincola*), com d'altres de més generalistes que poden créixer en diversos substrats, incloent els d'origen antropogènic (p.ex. *C. saxicola*).

Els tàxons lobulats estudiats són exclusivament saxícoles, a excepció de *C. schistidii*, que creix sobre molses. Les espècies saxícoles es troben en diversos tipus de roques. N'hi ha algunes que són exclusives de roques calcàries o carbonatades (p.ex. *C. aegaea*, *C. aurantia*, *C. arnoldii* s.s., *C. pusilla*), mentre que d'altres mostren preferència per les roques silícies (p.ex. *C. ignea*, *C. thallincola*). També es donen casos sense preferència pel tipus de substrat (p.ex. *C. biatorina*), i casos de gran dependència, com el cas de *C. gomerana*, que només creix sobre roques volcàniques.

A part de la natura del substrat, també juga un paper important el grau de porositat de la roca, si aquesta està fissurada o no, si es tracta de substrats durs i compactes o, en canvi, tous (morter, travertí) o més aviat argilosos.

4.2.10.2. HÀBITAT

Els hàbitats on trobem *Caloplaca* cobreixen un rang molt ampli, van des del nivell del mar (p.ex. *C. marina*) fins a una altitud de més de 3000 m (p.ex. *C. biatorina*). Comentarem breument els principals factors ecològics que determinen la presència d'un líquen en concret:

Lluminositat. - Hi ha espècies que creixen en llocs oberts i assolellats, sovint en cims de blocs (fotòfils) (p.ex. *C. biatorina*, *C. scopularis*), d'altres que prefereixen ambients poc o molt ombrívols (esciòfils) (p.ex. *C. arnoldii* s.s., *C. cirrochroa*, *C. obliterans*) i, fins i tot, espècies indiferents a la intensitat lumínica (p.ex. *C. granulosa*, *C. saxicola*).

Inclinació. - S'han trobat tant espècies independents del grau d'inclinació com espècies que requereixen de substrats més o menys horitzontals (p.ex. *C. scopularis*) o, per contra, totalment verticals (p.ex. *C. arnoldii* s.s., *C. cirrochroa*).

Nutrients. - Espècies com *C. biatorina*, *C. decipiens*, *C. saxicola*, *C. scopularis*, entre d'altres, depenen tant de les aportacions d'origen atmosfèric (nitrofiles, eutròfiles)

com de les presents en el substrat, que provenen majoritàriament de les deposicions d'ocells (ornitocopròfiles). Algunes d'aquestes espècies estan lligades també a la influència antròpica. En d'altres casos, com *C. cirrochroa* o *C. granulosa*, són més importants els nitrats continguts en l'aigua.

Factor litoral. - La proximitat o no del mar també és un factor determinant. A part de les espècies exclusivament litorals (p.ex. *C. marina*, *C. thallicola*, *C. verruculifera*), hi ha un seguit de tàxons que no apareixen necessàriament sempre vora el litoral, sinó que també se'ls pot trobar a certa distància de la costa, fins alguns quilòmetres cap a l'interior, però sempre dependent de la influència marina (p.ex. *C. aegaea*, *C. scopularis*).

Altitud i latitud. - Per una banda, es troben espècies amb una gran distribució altitudinal i latitudinal (p.ex. *C. cirrochroa*, *C. obliterans*, *C. tegularis*) i, per altra, una gran majoria que mostra unes preferències més restringides. Per exemple, *C. biatorina* i *C. rouxii* són espècies típicament d'alta muntanya i no se les observa per sota de certa altitud.

4.2.10.3. DISTRIBUCIÓ

En aquest estudi, ens hem centrat principalment en les espècies lobulades de distribució holàrtica, per tant, localitzades a l'hemisferi nord. Tot i així, també hem trobat alguna espècie de distribució més àmplia. En les descripcions dels diferents tàxons, hem mirat de completar la seva distribució fent referència als següents elements fitogeogràfics definits per Roux (1991): marítim, mediterrani, submediterrani, montà, temperat, oròfil centro-sudeuropeu, àrtic-alpí.

