



**UNA APROXIMACIÓ A L'ESTUDI DE  
L'EVOLUCIÓ I LA SISTEMÀTICA  
D'ARTEMISIA I GÈNERES AFINS**

---

**en els àmbits de la citogenètica i  
filogènia moleculars**

**Tesi doctoral  
Sònia Garcia Giménez  
Barcelona, 2007**

---

**Universitat de Barcelona  
Facultat de Farmàcia  
Departament de Productes Naturals,  
Biologia Vegetal i Edafologia  
Secció de Botànica**



**UNIVERSITAT DE BARCELONA**

**FACULTAT DE FARMÀCIA**

Departament de Productes Naturals,

Biologia Vegetal i Edafologia

SECCIÓ DE BOTÀNICA

**UNA APROXIMACIÓ A L'ESTUDI DE  
L'EVOLUCIÓ I LA SISTEMÀTICA  
D'ARTEMISIA I GÈNERES AFINS  
en els àmbits de la citogenètica  
i filogènia moleculars**

**Sònia Marta Garcia Giménez  
Barcelona, 2007**





UNIVERSITAT DE BARCELONA



**Unitat de Botànica**  
**Departament de Productes Naturals,**  
**Biologia Vegetal i Edafologia**

Facultat de Farmàcia  
UNIVERSITAT DE BARCELONA  
Av. Joan XXIII, s/n  
08028 Barcelona  
Tel. 00349340244 89/90/91

**UNIVERSITAT DE BARCELONA**

**FACULTAT DE FARMÀCIA**

Departament de Productes Naturals,

Biologia Vegetal i Edafologia

Programa de Doctorat: Medicaments, Alimentació i Salut

Bienni 2003-2005

**UNA APROXIMACIÓ A L'ESTUDI DE**  
**L'EVOLUCIÓ I LA SISTEMÀTICA**  
**D'ARTEMISIA I GÈNERES AFINS**  
**en els àmbits de la citogenètica i filogènia moleculars**

Memòria presentada per Sònia Marta Garcia Giménez per a optar al títol de Doctor per la

Universitat de Barcelona

Dr. Joan Vallès Xirau

Dra. M<sup>a</sup> Teresa Garnatje Roca

Sònia Marta Garcia Giménez  
Barcelona, 2007

La realització d'aquest treball ha estat possible gràcies a la concessió d'una beca predoctoral FPU i de dues beques d'estades breus del Ministeri d'Educació i Ciència. La financiació de les investigacions ha estat a càrrec dels projectes del Ministeri d'Educació i Ciència MEC CGL2001-3041-C02-01/BOS i CGL2004-04563-C02-01/BOS i de la Generalitat de Catalunya "Ajuts a Grups de Recerca Consolidats" 2001SGR00125.

*Al Carles*

*Als meus pares*

*In the summertime, when you walk down the road, you'll see the tulip leaves, if it's a little warm, turn themselves around so that their backs are toward the sun. You can just see where the sun hits them and where the sun doesn't hit...they move around a great deal and are fantastically beyond our wildest expectations.*

Barbara McClintock, citogenetista

## Agraïments

Aquest treball no hauria estat possible sense la col·laboració de moltes persones i el suport de diverses institucions. Tot i que el meu agraïment, en molts casos, va molt més enllà del que sabré expressar en paraules, no vull deixar passar l'ocasió d'intentar-ho, encara que segurament m'hauré de limitar per qüestions d'espai.

Especialment, haig d'agrair infinitat de coses que no cabrien ni en tota la tesi meus dos directors, la Dra. Teresa Garnatje i el Dr. Joan Vallès. Ells van estimular el naixement d'aquesta tesi doctoral, i el meu propi en la recerca científica, molt abans que jo pogués ni tan sols imaginar-ho (innocents, no sabien el que els venia al damunt!). El Dr. Joan Vallès és el *culpable* absolut de que m'interessés per la Botànica i per la investigació, ja des que el vaig tenir com a professor durant la carrera de Farmàcia. La seva capacitat de seducció com a docent fou, sens dubte, el que va propiciar que em matriculés per cursar el Màster Experimental en Ciències Farmacèutiques amb ell, la qual cosa ha constituït l'embrió d'aquest treball de tesi. La confiança que ha dipositat en mi, la seva capacitat d'engrescament, el seu suport, la seva amistat, les discussions enriquidores, els seus constants suggeriments per què en sortís el millor i mil coses més han estat indispensables durant el temps que he dedicat a la realització d'aquesta tesi. A la Dra. Teresa Garnatje també li haig d'agrair la dedicació i compromís que ha demostrat durant tot aquest període amb mi i amb el meu treball. A part de moltes coses més, particularment tota la confiança que ha dipositat en mi, la paciència i amistat que ha hagut de demostrar en molts casos i tot el que he après d'ella pel que fa al seu rigor científic i a la manera de treballar, del que espero que alguna cosa se m'hagi quedat. Les estimulants discussions científiques que hem mantingut durant tots aquests anys amb vosaltres m'han fet sentir una nova mena de felicitat a la qual era totalment aliena, i desemboquen en l'entusiasme amb què ara sento la investigació.

Un reconeixement especial va a en Jaume Pellicer, el meu *germà petit* i company de batalla en la recerca sobre les artemísies. Des que va arribar al laboratori s'ha convertit en el meu suport incondicional en tot el que era relacionat amb aquest treball, que en bona part és compartit amb ell. Gràcies per la teva ajuda indispensable al laboratori, pels teus suggeriments i la teva col·laboració en tants aspectes, pels *moments de glòria* que hem passat al davant del transil·luminador, per ser tan bon company, per escoltar-me quan m'ha fet falta (i han estat unes quantes vegades) i per moltes més coses.

La *jove doctora* Oriane Hidalgo també ha hagut d'aguantar uns quants rotllos, a més a més de ser una companya excel·lent en tots els sentits, una col·laboradora indispensable en alguns treballs i una bona font de consulta pel que fa a filogènia i sistemàtica moleculars. Moltes gràcies per la teva ajuda i el teu suport.

M'encanta el nostre petit equip i espero que puguem seguir treballant molt de temps junts!

Je souhaiterais remercier également Madame le professeur Sonja Siljak-Yakovlev de l'Université Paris-Sud, qui m'a généreusement accueillie dans son laboratoire, m'a initiée aux techniques de cytogénétique moléculaire et m'a transmis ses connaissances dans ce domaine, ainsi que pour son aide dans d'autres aspects moins scientifiques. C'est à Orsay, avec Sonja, que j'ai découvert la beauté de la cytogénétique. Un grand merci à Odile Robin pour son aide précieuse tant au laboratoire que pour les observations au microscope, pour son amabilité et sa compagnie, et aussi au Dr. Saranya Srisuwan pour

ses conseils techniques quant à l'hybridation *in situ*, et pour son accueil au laboratoire d'Orsay.

Dr. E. Durant McArthur (Shrub Sciences Laboratory, United States Department of Agriculture, Provo, USA) is acknowledged for providing all the materials of the *Tridentatae* and allies, as for his support and useful indications about everything related with these plants, for his constant encouragements which have been very important at some moments, and for the essential help with the English and editing of the manuscripts.

The period I spent at Queen Mary (University of London) meant a lot to my scientific training, to the wish of continuing with scientific research and to my love with anything that could smell something like evolution. Many thanks to Professor Andrew Leitch, for accepting me at his cytogenetics lab at Queen Mary, for giving me the opportunity to assist to his and Dr. Richard Nichols' amazing lectures on Evolutionary Genetics and Chromosome and Population Genetics and for the warm welcome I received during my stage in London from all your team and all your family. Dr. Yoong K. Lim is also acknowledged for teaching me the secrets of FISH, GISH, and seedling "treatment", for trying to transmit me all his knowledge and for his help with some of the metaphase plates that illustrate this work. Also, thanks to Mike Chester, Elizabeth McCarthy and Monika Bozek for your warm welcome, help and support in different aspects during my stage at Queen Mary. I appreciate Dr. Ilia Leitch (Jodrell Laboratory, Kew Gardens) for patiently listening my neverending lecture on the *Tridentatae* and for the suggestions that came afterwards, which considerably help improving the work on genome size of these species. Also, thanks for opening the doors of your home for me and contributing to the nice period I spent with all of you there.

Mostro també el meu agraïment al Dr. Miguel Ángel Canela, del Departament de Matemàtica aplicada i Anàlisi de la UB, per haver-nos il·luminat en el complicat món de l'estadística, per haver-nos atès amb amabilitat i eficàcia sempre que ens ha fet falta *consell estadístic* i per la seva indispensable col·laboració en alguns dels treballs que componen aquesta tesi.

Dr. John Twibell, curator of the *Artemisia* collection of the National Council for the Conservation of Plants and Gardens (NCCPG) is also acknowledged for his indispensable collaboration with the study on *Artemisia arborescens*, and also for welcoming us to his home, allowing us to sack his precious *Artemisia* collection and spending two lovely days at his house in Elsworth.

Dr. Ales Kovarik (Academy of Sciences of the Czech Republic) is thanked for his collaboration about the rDNA colocalization project (the nice southern blot gels that illustrate annex 1 were provided by him) and for accepting me to stay at his lab next October to start working together on our exciting new projects.

Many thanks to Drs. Agnieszka Kreitschitz, Aleksandr A. Korobkov, Huseyin Inceer, Stewart C. Sanderson, Shagdar Dariimaa and Shagdar Tsooj for their collaboration in different aspects of this work, as for providing us with seed or leaf material from different *Artemisia* species.

Als Drs. Jaume Comas i Ricard Àlvarez, i a la Chari i la Jordina, del servei de citometria dels serveis científicotècnics de la UB, els dono les gràcies per la seva ajuda i



amabilitat durant les (de vegades inacabables) sessions de citòmetre. A la Dra. Roser Guàrdia, del CEDOC, per la seva assistència quan m'ha fet falta consultar algun plec d'*Artemisia*.

Un agraïment especial per a en Miquel Veny, de l'Institut Botànic de Barcelona, per haver-se cuidat de les nostres artemísies als vivers així com per haver-nos ajudat en la recerca i captura d'algunes *Artemisia arborescens* pels volts de Montjuïc. A en Samuel Pyke, també de l'Institut Botànic de Barcelona, li agraeixo la seva ajuda en la recerca d'algunes *Anthemideae* i *Asteraceae*, així com per haver corregit l'anglès d'alguns dels textos que componen aquest treball.

Gràcies igualment a tots els que han collit i m'han portat generosament material molt valuós de diverses espècies i diverses localitats: Dr. Cèsar Blanché, Dra. Maria Bosch, Esteve Duran, Dra. Núria Garcia-Jacas, Dra. Amelia Gómez, Dra. Fadime Gumusboga, Dra. Oriane Hidalgo, M. Renée Orellana, Dra. M. Antònia Ribera, Dr. Àngel Romo, María Sanz, Dr. Juan A. Seoane, Dr. Ignasi Soriano, Dra. Maruxa Suárez, Dr. Alfonso Susanna, Montse Torrell, Miquel Veny, Dr. Josep Vicens i Dra. Roser Vilatersana.

A tots els membres de la Unitat de Botànica de la Facultat de Farmàcia, docents i membres del PAS, per haver-me acollit durant aquest temps i haver posat a la meva disposició els medis indispensables per a realitzar aquest treball. Particularment als Drs. Cèsar Blanché i Amelia Gómez, per haver-me guiat en els processos administratius per a presentar la tesi, i als Drs. Julià Molero i al Dr. Joan Martín per la seva comprensió i ajuda a l'hora de donar les pràctiques de Botànica (en un període especialment crític per a mi, amb tot l'embolic del final de la tesi al mateix temps!). A la Sònia Martínez, sempre tan disposada a ajudar-me en aspectes burocràtics. A en Màrius Mumburú, per haver-nos ajudat en les mesures de citometria i cuidar de les nostres plantes a l'hivernacle. També agraeixo la col·laboració de la María Sanz durant el meu primer any al laboratori, així com l'ajuda i la companyonia que una altra jove doctora, la Mercè Galbany, sempre m'ha demostrat. I la de tots els meus altres companys doctors, doctorands i no doctorands, amb els que he passat bones estones i m'han ajudat en aspectes puntuals.

Als membres de l'Institut Botànic de Barcelona, on s'ha desenvolupat part del contingut d'aquesta tesi, especialment als meus altres companys de laboratori, que m'han ajudat sempre que he tingut algun dubte o algun petit accident entre PCR i PCR: l'Igor Borsic, la Dra. Núria Garcia-Jacas, un altre cop les Dres. Mercè Galbany i Oriane Hidalgo, el Dr. Diego Gutiérrez, la Sara López, la Noemí Montes, també una altra vegada en Jaume Pellicer, la Cristina Roquet, i la Dra. Roser Vilatersana. Un reconeixement per a la Geperudeta i per al penitent, que sempre han vetllat per les nostres reaccions!

A les meves amigues de tota la vida, l'Esther, la Sara i la Laia, i a la Laura, la Txell i la Carla, per haver-me escoltat i donat suport quan m'ha fet falta. Al Sergio, per haver-me il·lustrat en el meravellós món del disseny gràfic, i sobretot del Photoshop, que m'ha estat tan útil en aquesta tesi.

Als meus pares, José i Maribel, al meu germà Sergi i a la meua àvia Dolores, que sempre han cregut tant en mi, de vegades més que jo i tot... no tinc prou paraules per agrair tot el que m'han fet!

Per al Carles tampoc no tinc paraules, però, si les tingués, no cabrien ni en aquest volum ni en cent més! Gràcies per tot aquest temps junts.

## INDEX

<b>Introducció</b> .....	1
1. Marc taxonòmic.....	3
a. Família <i>Asteraceae</i> (Compositae).....	3
b. Tribu <i>Anthemideae</i> .....	3
i. Subtribu <i>Artemisiinae</i> .....	4
ii. El gènere <i>Artemisia</i> .....	5
iii. El subgènere <i>Tridentatae</i> .....	7
c. La subtribu <i>Matricariinae</i> i el gènere <i>Tripleurospermum</i> .....	8
2. Objectius.....	9
a. Estudi de la variació de la quantitat de DNA nuclear.....	10
b. Estudis de citogenètica clàssica i molecular.....	12
c. Estudis de reconstrucció filogenètica.....	14
3. Bibliografia .....	16
<b>Compendi de publicacions</b> .....	21
1. Sònia Garcia, María Sanz, Teresa Garnatje, Agnieszka Kreitschitz, E. Durant McArthur and Joan Vallès. <b>Variation of DNA amount in 47 populations of the subtribe <i>Artemisiinae</i> and related taxa (<i>Asteraceae</i>, <i>Anthemideae</i>): karyological, ecological, and systematic implications.</b> 2004. <i>Genome</i> 47: 1004-1014.....	23
2. Sònia Garcia, Huseyin Inceer, Teresa Garnatje and Joan Vallès. <b>Genome size variation in some representatives of the genus <i>Tripleurospermum</i>.</b> 2005. <i>Biologia Plantarum</i> 49: 381-387.....	37
3. Sònia Garcia, Teresa Garnatje, Shagdar Dariimaa, Shagdar Tsooj and Joan Vallès. <b>New or rarely reported chromosome numbers in taxa of subtribe <i>Artemisiinae</i> (<i>Anthemideae</i>, <i>Asteraceae</i>) from Mongolia.</b> 2006. <i>Botanical Journal of the Linnean Society</i> 150: 203-210.....	47
4. Sònia Garcia, Teresa Garnatje, John D. Twibell and Joan Vallès. <b>Relationships between genome size stability, environmental features and geographical distribution in several taxa of <i>Artemisia</i> (<i>Asteraceae</i>) I: <i>A. arborescens</i> and its cultivars.</b> 2006. <i>Genome</i> 49: 244-253.....	57
5. Sònia Garcia, Teresa Garnatje, Oriane Hidalgo, Sonja Siljak-Yakovlev and Joan Vallès. <b>Extensive ribosomal DNA (18S-5.8S-26S and 5S) colocalization in the North American endemic sagebrushes (<i>Tridentatae</i>, <i>Artemisia</i>) revealed by FISH.</b> <i>Plant Systematics and Evolution</i> , en premsa.....	69

6.	Sònia Garcia, Miguel Á. Canela, Teresa Garnatje, Stewart C. Sanderson and Joan Vallès. <b>Evolutionary and ecological implications of genome size in the North American endemic sagebrushes and allies (<i>Artemisia</i>, <i>Asteraceae</i>)</b> .....	85
7.	Sònia Garcia, Teresa Garnatje, Jaume Pellicer, Joan Vallès and Sonja Siljak-Yakovlev. <b>Ribosomal DNA changes during polyploid and hybrid formation in the North American endemic sagebrushes (<i>Tridentatae</i>, <i>Artemisia</i>)</b> .....	121
8.	Sònia Garcia, Jaume Pellicer, Joan Vallès and Teresa Garnatje. <b>Molecular systematics of subgenus <i>Tridentatae</i> (<i>Artemisia</i>, <i>Asteraceae</i>) and allies: discordance between nuclear and chloroplast phylogenies</b> .....	147
	<b>Síntesi</b> .....	177
1.	Estudis sobre la variació de la quantitat de DNA nuclear.....	179
	a. <i>Artemisia</i> i gèneres relacionats.....	179
	b. Complex d' <i>Artemisia arborescens</i> .....	180
	c. Subgènere <i>Tridentatae</i> d' <i>Artemisia</i> .....	182
	d. Gènere <i>Tripleurospermum</i> .....	183
2.	Estudis de citogenètica clàssica i molecular.....	184
	a. Recòmptes cromosòmics.....	184
	b. Hibridació <i>in situ</i> fluorescent (FISH) i bandatge amb fluorocroms en espècies del subgènere <i>Tridentatae</i> .....	185
3.	Estudis de sistemàtica molecular en el subgènere <i>Tridentatae</i> d' <i>Artemisia</i> .....	187
4.	Perspectives de futur.....	189
5.	Bibliografia.....	191
	<b>Conclusions</b> .....	195
	<b>Annexos</b> .....	201
1.	Linkage of nuclear 45S and 5S rDNA in the sunflower family ( <i>Asteraceae</i> ) revealed by <i>in situ</i> hybridisation, PCR and Southern blot.....	203
2.	Genome size evolution and molecular cytogenetic studies in an ancient group of orophytic <i>Artemisia</i> ( <i>Asteraceae</i> ).....	209
3.	Genome size in the <i>Asteraceae</i> : first steps to a database.....	213