

## SOBRE LA VARIABILIDAD DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN TAXONES LIQUÉNICOS ESPAÑOLES. I

E. Manrique y D. Díaz-Guerra \*

### RESUMEN

Se estudia la composición química (dépsidos y depsidonas) de muestras de **Melanelia acetabulum** (Neck) Essl. (= **Parmelia acetabulum** (Neck) Duby) recogidos en cinco localidades españolas diferentes y de muestras de **Pseudevernia furfuracea** (L.) Zopf recogidas según un transecto altitudinal representativo del Sistema Central español (Sierra de Guadarrama). En **Melanelia acetabulum** se destaca la presencia de los ácidos norestíctico y connorestíctico, así como la ausencia de atranorina en las muestras provenientes de las localidades iberolevantineas. En **Pseudevernia furfuracea** se notifica la presencia únicamente de la línea química con ácidos fisódico y oxifisódico en la zona estudiada.

### ABSTRACT

#### On the variability of secondary metabolites in lichenic Spanish taxa

The chemical composition (depsides and depsidones) of samples of **Melanelia acetabulum** (Neck) Essl. (= **Parmelia acetabulum** (Neck) Duby) recolected in five spanish localities and samples of **Pseudevernia furfuracea** (L.) Zopf recolected throughout an altitudinal transect of Spanish Sistema Central (Sierra de Guadarrama) are studied. The samples of **Melanelia acetabulum** were found to contain norstictic and connorstictic acids, but the presence of atranorin was not detected in the samples recolected at the Iberolevantine localities. In **Pseudevernia furfuracea** is noticed that de only chemical strain present is that containing physodic and oxyphysodic acids.

El descubrimiento de que formas bien definidas de un taxon liquénico pueden presentar múltiples quimiotipos ha puesto de manifiesto la importancia que el conocimiento de las variaciones de ciertas sustancias liquénicas, dépsidos y depsidonas principalmente, pudiera tener en relación

a la distribución geográfica del mismo (HALE, 1967). Por esto el análisis químico en líquenes se ha adoptado como un procedimiento rutinario, no sólo para estudios de distribución geográfica, sino también como soporte en la búsqueda de relaciones filogenéticas entre diferentes grupos o la

\* Colegio Universitario Integrado. Universidad Complutense de Madrid. C/. Arcos de Jalón,s/n. Madrid-17.

capacidad de adaptabilidad a ciertos medios ambientales (HALE, 1966; CULBERSON & CULBERSON, 1967; LAWREY, 1977).

Nosotros pretendemos con esta aportación continuar (MANRIQUE & CRESPO, en prensa) dando a conocer la composición de este tipo de sustancias en taxones líquenicos españoles. Comenzamos con estudios en *Melanelia acetabulum* (Neck) Essl. (= *Parmelia acetabulum* (Neck) Duby) y *Pseudevernia furfuracea* (L) Zopf.

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras fueron analizadas por cromatografía en capa fina (TLC), siguiendo los métodos desarrollados por CULBERSON & KRISTINSSON (1970) y CULBERSON (1972, 1974) con pequeñas modificaciones. Fragmentos de talo (30-50 mg, peso seco) finamente troceados y depositados en un pequeño vial, se lavaron sucesivamente con 0,5 ml de benceno (3 veces) y 0,5 ml de acetona (3 veces). El tiempo de cada extracción fue de 10 minutos y a temperatura ambiente. Los extractos secados a vacío y redisoluertos en 0,2 ml de acetona, se aplicaron en tres placas de silicagel 60 F<sub>254</sub> (Merck 5554) para ser desarrolladas en los siguientes sistemas: A (benceno-dioxano-ácido acético, 180:45:5), B (n-hexano-eter etílico- ácido fórmico, 130:80:20) y C (tolueno-ácido acético, 200:30). Las placas a desarrollar en los sistemas B y C se mantuvieron en atmósferas saturadas de ácido fórmico al 60% y ácido acético-glacial respectivamente, durante 5 minutos. El frente del disolvente se dejó ascender hasta 10 cm contados a partir de la línea de aplicación (20 a 30 minutos, 18-20°C). Una vez secas las placas se observaron bajo luz ultravioleta de 254 nm de longitud de onda y se revelaron por pulverización con una solución de ácido sulfúrico al 10% en agua y posterior calefacción a 110°C durante 15-30 minutos. Alternativamente también se hicieron placas para revelar con potasa al 35% en agua, hipoclorito sódico o p-fenilendiamina. En los casos en los que la intensidad de las manchas era muy ligera, se repitieron las placas con mayor concentración en las aplicaciones.

Con el fin de distinguir entre los ácidos salacínico y connoestético, algunas placas se procesaron de acuerdo con O'DONOVAN & al. (1980).

En todos los casos se llevaron paralelamente muestras patrón de atranorina (Sigma Chemical Co. A6652), ácido norestético y ácido salacínico, estos últimos como extractos acetónicos de líquenes representativos (WALKE & JAMES, 1980).

## RESULTADOS Y DISCUSION

*Melanelia acetabulum* (Neck) Essl. (= *Parmelia acetabulum* (Neck) Duby).

Los especímenes de *Melanelia acetabulum* procedían de MAF Lich recogidos en cinco localidades diferentes de la Península Ibérica: Barcelona, Montseny, 1.200 msm; Burgos, Sierra de La Tesla, 1.100 msm; Soria, Aguilar de Montuenga, 900 msm; Murcia, Sierra del Carche, 1.371 msm, y Teruel, Javalambre, 1.100 msm.

En todos los especímenes analizados se encontró ácido norestético en una alta proporción y relativamente pequeñas concentraciones de ácido connoestético. Atranorina sólo estuvo presente en los ejemplares procedentes de la Sierra de La Tesla (al Norte de Burgos). ESSLINGER (1977) encuentra los mismos componentes que nosotros, no haciendo mención a la atranorina así como a la procedencia de las muestras analizadas por él. Otros autores (CLAUZADE & POELT, 1961; CULBERSON, 1969, 1970 y CULBERSON & al. 1977) además, refieren la presencia de atranorina, cloroatranorina y los ácidos salacínico, al-fametiletersalacínico y estético. Las muestras a las que hacen referencia estos últimos y que contienen atranorina, proceden todas ellas de localidades típicamente eurosiberianas; esto, junto con el hecho de que en las muestras analizadas por nosotros en la Península Ibérica son las de la localidad eurosiberiana las que muestran atranorina, nos hace pensar que la presencia de esta sustancia pudiera estar relacionada con el tipo de bioclima en el que vive dicho taxon.

Pensamos además y de acuerdo con la interpretación hecha por KEOGH (1978) y O'DONOVAN & al. (1980), que es justificable la ausencia del ácido salacínico, ya que la aparición de éste implicaría una bifurcación en la ruta biosintética, teniendo como intermediario entre él y el ácido connoresctítico (precursor directo del ácido norecctítico) al ácido consalacínico, no detectado por nosotros en ningún caso.

*Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf

Los especímenes de *Pseudevernia furfuracea* (un total de 140 talos) se recogieron siguiendo un transecto altitudinal representativo desde la meseta hasta la Sierra de Guadarrama (Sistema Central): Casa de Campo de Madrid, 14 especímenes, 650 msm; Monte de El Pardo, 10 especímenes, 720 msm; Soto Viñuelas, 10 especímenes, 740 msm; Miraflores, 20 especímenes, 1.260 msm; Carretera al Pto. Morcuera, 20 especímenes, 1.475 msm; Pto. Morcuera, 20 especímenes, 1.725 msm; Peña Pintada, 36 especímenes, 1.800 msm, y Pto. Navarria, 10 especímenes, 1.960 msm. En todos los casos las muestras eran epífitos de pino (*Pinus* sp.pl.).

Los estudios fitoquímicos realizados sobre este taxon revelan la existencia de tres líneas químicas: una con ácido olivetórico, otra con ácido olivetórico y ácido fisódico y una última con ácido fisódico y ácido oxifisódico. C. F. CULBERSON (1965), tras un análisis de especímenes recogidos en una localidad española cercana a Abaurrea Alta (1.000 msm aproximadamente) encontró una representación de estos tres quimiotipos con las siguientes proporciones: 12% con ácido olivetórico, 1% con los ácidos olivetórico y fisódico y un 87% con ácido fisódico. Es de destacar que esta localidad, situada al norte de la provincia de Navarra, muy próxima ya a la frontera con Francia, posee unas condiciones climáticas muy diferentes a las del Sistema Central que nosotros hemos estudiado. En el caso de Abaurrea Alta el bioclima eurosiberiano carece de un período de aridez estival que sin embargo es acusado en localidades mediterráneas como son las estudiadas por nosotros en el Sistema Central.

Las muestras recogidas por nosotros sobre pino mostraron contener invariablemente los ácidos fisódico y oxifisódico, además del ácido 2'-O-metilfisódico y atranorina, esta última en una alta proporción. En consecuencia, como era esperable, las diferencias altitudinales no influyen en la distribución de las líneas químicas de este taxon. Por el contrario sigue apareciendo como cuestión de mayor interés la variación de las mismas con respecto a un gradiente latitudinal (HALE, 1956 y HALVORSEN & BENDIKSEN, 1982).

## AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento más sincero al equipo de Liquenología del Departamento de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid por el apoyo científico a la hora de determinar el material y por su desinteresada colaboración.

## BIBLIOGRAFIA

- CLAUZADE, G. & POELT, J. (1961) *Parmelia kostlerae* nova species. *Nova Hedwigia* 3(2):367-373.
- CULBERSON, C.F. (1965) A note on the chemical strains of *Pseudevernia furfuracea*. *Bryologist* 68:435-439.
- CULBERSON, C.F. (1969) Chemical and Botanical Guide to Lichen Products. *The University of North Carolina Press*.
- CULBERSON, C.F. (1970) Supplement to Chemical and Botanical Guide to Lichen Products. *Bryologist* 73:177-377.
- CULBERSON, C.F. (1972) Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thinlayer chromatographic method. *J. Chromatogr.* 92:113-125.
- CULBERSON, C.F. (1974) Conditions for the use of Merck silica gel 60 F254 plates in the standardized thin-layer chromatographic technique for lichen products. *J. Chromatogr.* 97:107-108.
- CULBERSON, C.F. & KRISTINSSON, H. (1970) A standardized method for identification of lichen products. *J. Chromatogr.* 46: 85-93.
- CULBERSON, C.F., CULBERSON, W.L. & JOHNSON, A. (1977) Second Supplement to Chemical and Botanical Guide to Lichen Products. *American and Lichenological Society. St. Luis*.

- CULBERSON, W.L. & CULBERSON, C.F. (1967) Habitat selection by chemically differentiated races of lichens. *Science* 158:1195-1197.
- ESSLINGER, T.L. (1977) A chemosystematic revision of the brown *Parmelia*. *J. Hattori Bot. Lab.* 42:1-211.
- HALE, M.E. (1956) Chemical strains of the lichen *Parmelia furfuracea*. *Am. J. Bot.* 43:456-459.
- HALE, M.E. (1966) Chemistry and evolution in lichens. *Israel J. Bot.* 15:150-157.
- HALE, M.E. (1967) *The Biology of Lichens*. (Barrington, F.R.S. and Willis, A.J., eds.) Edward Arnold. London.
- HALVORSEN, R. & BENDIKSEN, E. (1982). The chemical variation of *Pseudevernia furfuracea* in Norway. *Nord. J. Bot.* 2:371-380.
- KEOGH, M.F. (1978) New Beta-orcinol depsidones from *Xanthoparmelia quintaria* and a *Thelotrema* species. *Phytochemistry* 17:1192-1193.
- LAWREY, J.D. (1977) Adaptive significance of O-methylated lichen depsides and depsidones. *Lichenologist* 9:137-142.
- MANRIQUE, E. & CRESPO, A. (en prensa). Sobre *Melanelia acetabulum* (Neck) Essl. (*Parmelia acetabulum*) en la Península Ibérica: caracterización química y distribución. *Lazaroa* 5:-
- O'DONOVAN, D.G., ROBERTS, G. & KEOGH, M.F. (1980) Structure of the Beta-orcinol depsidones, conrostictic and consalacinic acids. *Phytochemistry* 19:2497-2499.
- WALKE, F.J. & JAMES, P.W. (1980) A revised guide to microchemical techniques for the identification of lichen products. *Bull. Brit. Lichen Soc.* 46 (supplement):13-29.