

## SUSTANCIAS LIQUÉNICAS EN TÁXONES DE LA PROVINCIA DE MADRID II. *HYPOGYMNA* gr. *INTESTINIFORMIS*

por

ESTEBAN MANRIQUE\*, LUIS BALAGUER\*\* & FERNANDO VALLADARES\*\*

### Resumen

MANRIQUE, E., L. BALAGUER & F. VALLADARES (1985). Sustancias líquénicas en táxones de la provincia de Madrid, II: *Hypogymnia* gr. *intestiniformis*. *Anales Jard. Bot. Madrid* 42(1): 81-85.

Se estudia la composición química de las especies del complejo *Hypogymnia intestiniformis* de la sierra de Guadarrama. La presencia o ausencia de ácido fumarprotocetrático distingue dos especies: *H. atrofusca* (Schaer.) Ras. y *H. intestiniformis* (Vill.) Ras., s. str., con dos y cinco razas químicas respectivamente.

### Abstract

MANRIQUE, E., L. BALAGUER & F. VALLADARES (1985). Lichen substances of taxa of Madrid, II: *Hypogymnia* gr. *intestiniformis*. *Anales Jard. Bot. Madrid* 42(1): 81-85 (in Spanish).

The chemical composition of the *Hypogymnia intestiniformis* complex in the Guadarrama range is studied. The presence or absence of fumarprotocetraric acid separates *H. atrofusca* (Schaer.) Ras. and *H. intestiniformis* (Vill.) Ras., s. str., with two and five chemical strains respectively.

## INTRODUCCIÓN

El complejo de especies denominado como *Hypogymnia intestiniformis* está representado en Europa por tres especies saxícolas de médula maciza que se diferencian entre sí morfológica y químicamente (KROG, 1974): *H. atrofusca* (Schaer.) Ras., *H. intestiniformis* (Vill.) Ras., s. str., y *H. oroarctica* Krog. De éstas, solo una ha sido citada en los estudios de la Sierra de Guadarrama (Madrid), *H. intestiniformis* (SANCHO, 1978, herbario MAF lich.).

Este grupo de especies ha constituido una fuente de problemas taxonómicos y nomenclaturales que aún no están del todo resueltos, y menos en lo que se refiere a la flora española.

Pese a que las tres especies del complejo *H. intestiniformis* se definen por una morfología y una química particular, en nuestra flora hemos encontrado formas

(\*) Departamento de Botánica. Facultad de Farmacia. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.

(\*\*) Unidad de Biología General. Colegio Universitario Integrado. Arcos del Jalón, s/n. 28037 Madrid.

Este trabajo se desarrolla en el marco del proyecto n.º N/R 2954-83 C01-02 financiado por la CAICYT.

intermedias, tanto en los caracteres morfológicos como en los químicos. Este trabajo pretende dar a conocer una serie de observaciones realizadas acerca de estos caracteres que, apoyados en otros de la literatura (OHLSSON, 1973; KROG, 1974), ponen de manifiesto la presencia de dos de las especies de este grupo, *H. atrofusca* y *H. intestiniformis*, así como una serie de razas químicas de ambas en la Sierra de Guadarrama (Madrid), tratando de contribuir al conocimiento taxonómico del grupo.

#### ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

La primera sustancia química que se detectó en *H. intestiniformis* s. l. fue la atranorina (ZOPF, 1907; THIES, 1932).

KROG (1951), utilizando las técnicas de microcristalización, puso de manifiesto una estrecha relación entre el contenido medular de sustancias liquénicas y diferencias morfológicas, distinguiendo así dos táxones, uno con ácido fisódico y otro con sustancias estructurales relacionadas con el ácido protocetrárico.

Posteriormente, también KROG (1962) observó que los especímenes que producían ácido fisódico, ocasionalmente podían dar una reacción PD+, lo que revelaba la presencia de una sustancia entonces no identificada.

Con la utilización de la cromatografía en capa fina (TLC) se puso de manifiesto la identidad de las principales sustancias liquénicas presentes en el complejo *H. intestiniformis*. Estas podían tener o bien ácido fumarprotocetrárico y ácido fisódico o bien una combinación de ácido fisódico y ácido protocetrárico, además de atranorina en el córtex y otras sustancias accesorias de escaso valor taxonómico.

Según lo anteriormente expuesto y según la misma autora (KROG, 1962), era posible identificar positivamente las sustancias medulares mediante la aplicación rutinaria de los reactivos clásicos usados en la taxonomía liquénica (PD, K, C, KC). Esto sería así puesto que el ácido fumarprotocetrárico nunca aparecería junto con el ácido fisódico, por lo que los especímenes que presentasen ácido fumarprotocetrárico se identificarían mediante una reacción KC- en la médula. Los especímenes que reaccionaran KC+ rojo (presencia de ácido fisódico) en la médula que además resultasen PD+ amarillo-naranja sería debido a la presencia simultánea de ácido protocetrárico.

De acuerdo con POELT (1969), los especímenes de *H. intestiniformis* var. *intestiniformis* son PD+ rojo (ácido fumarprotocetrárico) y KC- (ausencia de ácido fisódico), mientras que esta última sustancia es la que de forma constante se encuentra en los especímenes europeos identificados como *H. intestiniformis* var. *atrofusca*.

OHLSSON (1973), en su estudio sobre la flora liquénica de la Columbia Británica, pone de manifiesto la presencia de *H. atrofusca*, ya que todos los especímenes eran PD-, KC+ rojo (con ácido fisódico).

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos estudiado únicamente material fresco, recogido por nosotros mismos entre los meses de julio y septiembre de 1984 en las siguientes localidades: 1)

ladera SE de Cueva Valiente, 1725 m (8 talos); 2) ladera SE de Cueva Valiente, 1850 m (17 talos); 3) cima de Cueva Valiente, 1902 m (44 talos); 4) cima de Cerro Minguete, 2024 m (12 talos); y 5) alto de las Guarramillas, 2262 m (3 talos). Las cuatro primeras estaciones se encuentran incluidas en el piso de vegetación oromediterráneo y la quinta en el crioromediterráneo (RIVAS-MARTÍNEZ, 1982). Todas las muestras utilizadas en el presente trabajo se encuentran depositadas en el herbario MAF-Lich.

El análisis de los componentes químicos se llevó a cabo utilizando el método de cromatografía en capa fina (TLC) propuesto por CULBERSON & KRISTINSSON (1970) y CULBERSON (1972) y modificado por nosotros (MANRIQUE & CRESPO, 1983). Para diferenciar mejor el ácido fumarprotocetrárico, así como para realizar ciertas comprobaciones de identidad entre dos o más sustancias, se recurrió al procedimiento de cromatografía en capa fina bidimensional descrito por CULBERSON & JOHNSON (1976). En todo momento se utilizaron sustancias patrón: atranorina (MERCK), ácido norestíctico y ácido salacínico (un extracto acetónico de *Melanelia acetabulum* (Neck.) Essl. y ácido fumarprotocetrárico [un extracto acetónico de *Cetraria islandica* (L.) Ach.]

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los especímenes analizados presentaron atranorina en el córtex (84 talos). De entre éstos, 51 presentaron ácido fumarprotocetrárico y ácido protocetrárico como únicas sustancias medulares taxonómicamente importantes; 7 talos presentaron los ácidos fumarprotocetrárico, protocetrárico y fisódico además de una sustancia desconocida (Rf 30); 4 presentaron los ácidos fumarprotocetrárico, protocetrárico, oxifisódico y fisódico; 1, los ácidos fumarprotocetrárico y fisódico, y otro talo, el ácido fumarprotocetrárico y dos sustancias desconocidas K+rojo que dan dos manchas de coloración amarilla bordeadas de gris al revelar las placas de TLC con ácido sulfúrico al 10% y posterior calentamiento a 110°C durante 15 minutos (Rf 18 y 22 en el disolvente A, y 19,5 y 29 en el disolvente B).

El resto de los talos (sin ácido fumarprotocetrárico) presentaron ácido fisódico (20 talos). De éstos, 4 presentaron además ácido protocetrárico y dos sustancias desconocidas que no dan fluorescencia a la luz ultravioleta de 254 nm de longitud de onda y que se colorean de violeta tras el revelado con ácido sulfúrico al 10% y posterior calentamiento a 110°C durante 15 minutos (Rf 45 y 64 en el disolvente A). Los 16 restantes presentaron, además del ácido fisódico, una mancha que hemos identificado como ácido 2'-0-metilfisódico por comparación con un extracto de *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf aplicada en la placa de TLC paralelamente.

Si tenemos en cuenta las puntualizaciones hechas por OHLSSON (1973) y KROG (1974) en lo referente a los caracteres químicos de las especies del complejo *H. intestiniformis*, hemos de considerar que todos aquellos especímenes con ácido fumarprotocetrárico en la médula, a pesar de que fuera acompañado por otras sustancias liquénicas, deben entenderse dentro de *H. intestiniformis* (Vill.) Ras., s. str.; además, todos estos especímenes tienen en común la presencia de finos lóbulos secundarios, aunque en algunos casos únicamente se pueden observar bajo la lupa como pequeñas papilas cilíndricas que emergen del talo, con los extremos muy oscurecidos.

Por el contrario, a todos aquellos especímenes sin ácido fumarprotocetrárico, por lo tanto sin ácido fisódico en la médula, cualquiera que sean las sustancias acompañantes, los hemos considerado dentro de *H. atrofusca* (Schaer.) Ras., todos ellos caracterizados por lóbulos más anchos que en los anteriores (entre 1 y 2 mm) e imbricados, de talos fuertemente adheridos al sustrato.

En consecuencia, distinguimos cinco razas químicas en la especie *H. intestiniformis* y dos en la especie *H. atrofusca*. Los caracteres químicos de estas razas quedan recogidos en la tabla I. Puede deducirse, por tanto, que una reacción KC+ no es suficiente para distinguir *H. atrofusca* de *H. intestiniformis* en el material concreto de los especímenes de la sierra de Guadarrama, ya que en algunos casos, el ácido fisódico puede acompañar al ácido fumarprotocetrárico, hecho que no parece darse en los especímenes norteeuropeos (KROG, 1974). La reacción PD+ revela la presencia tanto del ácido protocetrárico como fumarprotocetrárico. Por todo ello creemos necesario un análisis cromatográfico para discriminar, en los casos de morfología ambigua, la presencia o ausencia del ácido fumarprotocetrárico en la médula, lo que nos llevaría a *H. intestiniformis* o *H. atrofusca*, respectivamente.

No obstante, nos planteamos estudios posteriores para correlacionar con variables ecológicas o de algún otro tipo las diferencias químicas descritas en el presente trabajo, lo que ayudaría a comprender las estrategias que utilizan los líquenes en su distribución o invasión de nuevos hábitat. No descartamos la posibilidad de que pudieran representar situaciones relictas de adaptación de antiguos táxones tras un proceso de adaptación geográfica o variaciones fisiológicas de adaptación a determinados microambientes.

TABLA I

		Atranorina	Cloroatranorina	S.D. UV-(Rf 64)	S.D. UV-(Rf 45)	2'-0-metilfisódico	Fisódico	S.D. K+ (Rf 22)	S.D. K+ (Rf 18)	Oxifisódico	Protocetrárico	Fumarprotocetrárico
<i>H. atrofusca</i> (20)	I	+	+	+	+		+				+	
	II	+	+			+	+					
<i>H. intestiniformis</i> (64)	I	+	+								+	+
	II	+	+				+				+	+
	III	+	+				+			+	+	+
	IV	+	+				+					+
	V	+	+					+	+			+

Sustancias líquénicas encontradas en las especies del grupo *H. intestiniformis* de la Sierra de Guadarrama. Los valores de Rf se expresan de acuerdo con CULBERSON & KRISTINSSON (1970), utilizando el disolvente A: tolueno-dioxano-ácido acético (180:45:5). U.V.: ultravioleta negativo; S.D.: sustancia desconocida. Entre paréntesis se da el número de talos analizados.

## AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a la Doctora Crespo por su asesoramiento en la determinación del material, y a L. G. Sancho, por sus valiosas sugerencias.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CULBERSON, C. F. (1972). Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method. *J. Chromatogr.* 72: 113-125.
- CULBERSON, C. F. & H. KRISTINSSON (1970). A standardized method for the identification of lichen products. *J. Chromatogr.* 46: 85-93.
- CULBERSON, C. F. & A. JOHNSON (1976). A standardized twodimensional thin-layer chromatographic method for lichen products. *J. Chromatogr.* 128: 253-259.
- KROG, H. (1951) Microchemical studies in *Parmelia*. *Nytt Mag. Naturvidensk* 88: 57-85.
- KROG, H. (1962). A contribution to the lichen flora of Alaska. *Ark. Bot.*, ser. 2, 4: 489-513.
- KROG, H. (1974). Taxonomic studies in the *Hypogymnia intestininiformis* complex. *Lichenologist* 6: 135-140.
- MANRIQUE, E. & A. CRESPO (1983). Sobre *Melanelia acetabulum* (Neck.) Essl. en la Península Ibérica: caracterización química y distribución. *Lazaroa* 5: 269-275.
- OHLSSON, K. E. (1973). New and interesting macrolichens of British Columbia. *Bryologist* 76: 366-387.
- POELT, J. (1969). *Bestimmungsschlüssel Eropaischer Flechten*. Lehre.
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (1982). *Mapa de las series de vegetación de Madrid*. Diputación Provincial de Madrid.
- SANCHO, L. G. (1978). *Macrolíquenes de la sierra de Guadarrama*. Tesina de Licenciatura (inéd.). Universidad Complutense, Madrid.
- THIES, W. (1932). Systematische Verbreitung und Vorkommen der Flechtenstoffe (Flechtensäuren). In: G. KLEIN (Ed.), *Handbuch der Pflanzenanalyse* 3(4): 429-452. Wien.
- ZOPF, W. (1907). *Die Flechtenstoffe in chemischer, botanischer, pharmakologischer und technischer Beziehung*. Fischer, Jena.

Accepted for publication: 28-V-1985