

## EFFECTOS DE LA RADIACIÓN UV SOLAR EN LA ACUMULACIÓN DE 1'-CLOROPANARINA EN *ERIODERMA LEYLANDII* (PANNARIACEAE, ASCOMYCOTINA LIQUENIZADO), LAGUNA SAN RAFAEL, AISÉN, CHILE

WANDA QUILHOT<sup>1</sup>, CECILIA RUBIO<sup>1</sup>, ERNESTO FERNÁNDEZ<sup>1</sup> y MARÍA ELIANA HIDALGO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina; <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Casilla 5001, Valparaíso, Chile

### RESUMEN

En talos de *Erioderma leylandii*, recolectados en Laguna San Rafael (46°20'S), se determinaron las tasas de acumulación de 1'-cloropannarina, compuesto fotoprotector de radiación UV-A y UV-B. Se observaron incrementos significativos en la concentración del compuesto ( $p \leq 0.005$ ) en las muestras recolectadas en el año 2001, al comparárlas con muestras recolectadas en 1997. Los resultados sugieren que la mayor síntesis de 1'-cloropannarina es consecuencia del incremento de la radiación UV-B en una de las áreas del hemisferio sur más afectadas por la disminución del ozono estratosférico.

Palabras clave: Líquenes, 1'-Cloropannarina, Bioindicadores, Radiación ultravioleta.

### ABSTRACT

Effects of UV solar radiation on the accumulation of 1'-Chloropannarin in *Erioderma leylandii* (Pannariaceae, Lichenized Ascomycotyn) Laguna San Rafael, Aisen, Chile. In *Erioderma leylandii* collected at Laguna San Rafael (46°20'S), the accumulation rates of 1'-chloropannarin, a photoprotective compound of UV-A and UV-B radiation, were determined. It was observed significant increases in the compound concentration ( $p \leq 0.005$ ) in samples collected in year 2001, if compared to samples collected in 1997. The results suggest that the major 1'-chloropannarin synthesis is a consequence of the UV-B radiation increase in one of the areas of the Southern Hemisphere more affected by ozone depletion.

Key words: Lichens, 1'-Chloropannarin, Bioindicators, Ultraviolet radiation.

### INTRODUCCIÓN

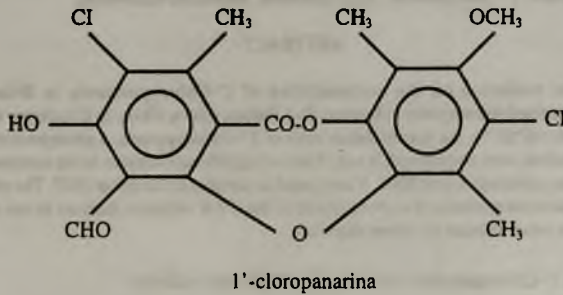
La disminución del ozono estratosférico produce incrementos de la radiación UV-B en la superficie terrestre. Aunque la radiación UV-B (280-315 nm) contribuye con menos de 1 % a la irradiación solar que alcanza la superficie terrestre, es la más dañina para los organismos (Holm-Hansen *et al.* 1993). En el período comprendido entre 1988 y 1999, la radiación UV-B ha aumentado entre el 15 % y el 20 % en relación a la década del setenta; la radiación UV-A (215-400 nm), que no es afectada por el ozono, permanece relativamente constante (McKenzie *et al.* 1999).

Los organismos vivos de los ecosistemas terrestres y acuáticos han desarrollado estrategias para protegerse del posible daño inducido por la radiación UV, una de las cuales es la síntesis y acumulación de compuestos fotoprotectores. MAAs en invertebrados marinos, microalgas y otros organismos planctónicos (Karentz *et al.* 1992), flavonoides en musgos (Markham *et al.* 1990) y en plantas vasculares (Caldwell *et al.* 1989), son algunos de los compuestos fotoprotectores naturales.

Se considera a los líquenes como bioindicadores potenciales de cambios en los niveles de radiación UV debido a la acumulación de compuestos fotoprotectores de radiación UV-A y UV-B (Quilhot *et al.* 1998). Estos compuestos se caracterizan por los cromóforos ortohidroxycarbonilo y oxolano-carbonilo (Quilhot *et al.* 1998, Rubio *et al.* 2001) si provienen de las rutas biogénicas acetato-malonato y ácido chiquímico, respectivamente. Las tasas de acumulación de los compuestos fotoprotectores aumentan en hábitats con elevados niveles de radiación UV, como ha sido determinado en líquenes de Antártica en los cuales las concentraciones de ácido úsnico (fotoprotector de radiación UV-B), en un período de 30 años,

se correlacionan con los niveles de ozono medidos en igual período (Quilhot *et al.* 1996). En líquenes recolectados en gradientes altitudinales en zonas alpinas de Chile, se ha observado un incremento creciente en la concentración de ácido úsnico (Quilhot *et al.* 1998, Fernández 1998) y de ácido rizocárpico (Rubio *et al.* 2001), con la altura y la radiación UV solar. En especímenes de *Pseudocyphellaria crocata*, cubiertos con filtros para eliminar la radiación de longitud de onda inferior a 400 nm, disminuyó significativamente la acumulación de calicina -un derivado de ácido chiquímico- al compararla con especímenes expuestos a la radiación solar total (Bjerke 1999). Las propiedades filtrantes de radiación UV de estos compuestos concuerdan con su capacidad fotoprotectora determinada por métodos *in vitro* e *in vivo* (Fernández *et al.*, 1996, Fernández *et al.*, 1998).

La radiación UV ha aumentado en las regiones polares y en las latitudes medias que, para el hemisferio sur, ocurre entre los 35° y 55° S (Randel *et al.* 1999). Laguna San Rafael (46°40'S), está localizada en una zona con elevada irradiancia UV. El propósito de este trabajo fue, primero, determinar las tasas de acumulación de 1'-cloropinarina, compuesto fotoprotector que presenta el cromóforo ortohidroxycarbonilo, acumulado por *Erioderma leylandii* (Quilhot *et al.* 1983) especie líquénica frecuente en Laguna San Rafael, y comparar la evolución de las concentraciones del compuesto en un periodo de tres años y cuatro meses.



## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material líquénico:** Talos de *Erioderma leylandii* (Müll. Arg.) Mont. se recolectaron al azar en diferentes forófitos en Laguna San Rafael, en el Área de Desarrollo de CONAF, en Noviembre de 1997 y en Febrero del 2001. Especímenes representativos se encuentran depositados en el Herbario de Líquenes de la Escuela de Química y Farmacia de la Universidad de Valparaíso.

Los talos se limpiaron y lavaron con agua destilada; luego se tritularon y secaron a 60°C. La cuantificación de 1'-cloropinarina se realizó en talos individuales, n = 12 por año de recolección.

**Extracción y cuantificación de 1'-cloropinarina:** El material líquénico se maceró en acetona a temperatura ambiente (20°C ± 2°) durante 48 y 24 horas sucesivamente. Los dos extractos se filtraron y concentraron al vacío a un volumen de 5 ml. Los extractos se sembraron en placas de silicagel 60 F<sub>254</sub> HPTLC Merck usando un aplicador Camag Linomat; las placas se eluyeron en tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (139:83:9 v/v). La 1'-cloropinarina se cuantificó en un densitómetro Camag HPTLC equipado con un procesador de datos Chromatopac Shimadzu model CR-6A, a  $\lambda = 313$  nm.

La variabilidad de las concentraciones de 1'-cloropinarina entre los talos se analizó mediante el análisis de varianza ANOVA y las diferencias entre las medias de las concentraciones mediante el test de Student.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de 1'-cloropararina en individuos de *E. leylandii*, recolectados en un período de tres años y cuatro meses, fueron significativamente diferentes ( $p \leq 0.005$ ); Los mayores incrementos se observaron en los talos recolectados en el año 2001.

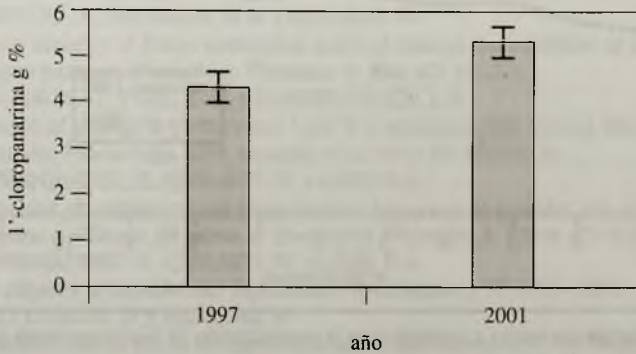


FIGURA 1. Tasas de acumulación de 1'-cloropararina en *E. leylandii* en los años 1997 y 2001.

El incremento en la concentración de 1'-cloropararina sería la consecuencia del aumento de la radiación UV en años recientes debido a la disminución del ozono (McKenzie *et al.* 1999). El compuesto absorbe en el UV-A y en el UV-B (Hidalgo *et al.* 1992) protegiendo las membranas fotosintéticas del fotobionte de procesos fotooxidativos. La radiación UV-B inhibe la producción de oxígeno en el fotosistema II (Kulandaivelu y Nooruden 1983); la fotodestrucción de los componentes fotosintéticos es consecuencia de la reacción de radicales libres con el oxígeno que se han generado durante el proceso fotosintético (Herbert *et al.* 1992). Además, los líquenes están protegidos de la fotooxidación por la capacidad antioxidante que ha sido demostrada para algunos compuestos aislados de líquenes que incluyen a 1'-cloropararina (Hidalgo *et al.* 1994).

El efecto de la radiación UV en la síntesis de compuestos fotoprotectores en líquenes ha sido demostrada mediante estudios de la variación espacial y temporal de algunos compuestos en numerosas especies de líquenes (Quilhot *et al.* 1991a, Quilhot *et al.* 1991b, Quilhot *et al.* 1998, Rubio *et al.* 2001) y por experimentos de campo y de laboratorio en los cuales se ha demostrado que en líquenes sometidos a dosis adicionales de radiación UV (UV-A y UV-B) las concentraciones de los compuestos fotoprotectores se incrementa, particularmente, por efectos de la radiación UV-A (Swanson y Fahselt 1997).

Las concentraciones de 1'-cloropararina varían en talos individuales de *E. leylandii* (Fig. 2). En líquenes, los individuos de una misma población no son químicamente homogéneos; las tasas de acumulación de los productos secundarios dependen, entre otras causas, de la edad de los tejidos (Culbertson *et al.* 1983), la determinación de la edad en los líquenes es un problema no resuelto, y de su utilización como reservas energéticas. Evidencias experimentales sugieren que la acumulación de estos productos en el talo depende de las tasas de síntesis y de degradación, producidas por procesos enzimáticos. Compuestos fenólicos como 1'-cloropararina, pueden ser catabolizados para utilizarlos como sustrato energético en períodos de estrés nutricional para los líquenes; este catabolismo, ligado a acetil-CoA, puede conducir a un nuevo proceso de síntesis (Vicente *et al.* 1980). Una dehidrogenasa, cuya síntesis se inicia con el estrés nutricional, produce la degradación del ácido úsnico en *Evernia prunastri* (Estévez *et al.* 1981). Esta hipótesis explicaría la variación intratalina de la 1'-cloropararina en *E. leylandii*.

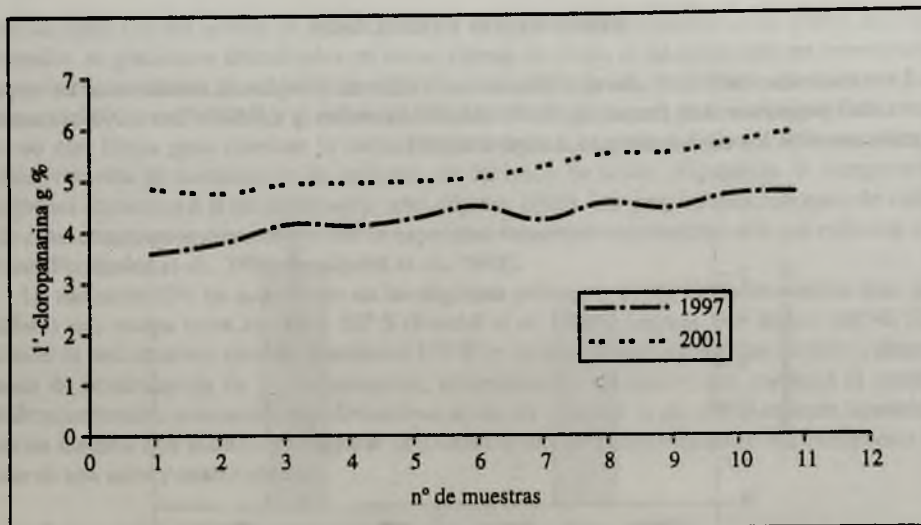


FIGURA 2. Variación intratalina e intertalina en la concentración de 1'-cloropanicina en *E. leylandii* recolectada en los años 1997 y 2001.

De los resultados de la investigación sobre compuestos fotoprotectores en líquenes puede inferirse que estos organismos están especialmente adaptados a niveles variables de radiación UV. Los líquenes que acumulan 1'-cloropanicina pueden utilizarse en experimentos de monitoreo de este cambio global, en diferentes escalas de tiempo, debido a su estabilidad fotoquímica dada por los bajos rendimientos cuánticos de fotoconsumo (Hidalgo *et al.* 1992) propiedad que asegura que en líquenes conservados en herbarios la 1'-cloropanicina no exhibe cambios fotoquímicos significativos.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto Iniciativa Darwin. Nuestros agradecimientos a Raleigh International, Proyecto 01A, y a CONAF XI Región por su apoyo logístico. Especiales agradecimientos a Daniela Castro, coordinador en Chile del Proyecto Biodiversidad Aisén, financiado por la Unión Europea, que facilitó la recolección de materia líquénica en Febrero 2001. Agradecemos asimismo a la Compañía Naviera NAVIMAG por el traslado de uno de los investigadores desde Laguna San Rafael a Puerto Chacabuco.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BJERKE, J.W.  
1999 Responses among lichens of the genus *Pseudocyphellaria* to local climate and radiation gradients in southernmost South America. Thesis, University of Tromsø, Norway.
- CALDWELL, M.N., TERAMURA, A.H. y TEVINI, M.  
1989 The changing solar ultraviolet climate and ecological consequences for higher plants. *Trends Ecol. Evol.* 4:363.
- CULBERSON, C.F., CULBERSON, W.L. y JHONSON, A.  
1983 Genetic and environmental effects on growth and production of secondary compounds in *Cladonia cristatella*. *Biochem. System. Ecol.* 11: 77-84.

- ESTÉVEZ, M.P., LEGAZ, M.E., OLMEDA, M., PÉREZ, J.P. y VICENTE, C.  
1981 Purification and properties of a new enzyme from *Evernia prunastri* which reduces L-usnic acid. *Zeitsch. Naturforsch. Teil C* 36: 35-39.
- FERNÁNDEZ, E., QUILHOT, W., GONZÁLEZ, I., HIDALGO, M.E., MOLINA, X. y MENESES, I.  
1996 Photoprotector capacity of lichen metabolites against UV-B radiation. *Cosmetic and Toiletries* 111: 69-74.
- FERNÁNDEZ, E., QUILHOT, W., RUBIO, C. y BARRE, E.  
1998 Lichen's adaptation to altitude. In: *Photosynthesis: mechanisms and effects* (E. Gareb, ed.) pp. 4093-4097. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht.
- FERNÁNDEZ, E., REYES, A., HIDALGO, M.E. y QUILHOT, W.  
1998 Photoprotector capacity of lichen metabolites assessed through the inhibition of the 8-methoxypsoralen photobinding to protein. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 42: 195-201.
- HERBERT, S.K., SAMSON, G., FORK, D.C. y LANDENBEACH, L.B.  
1992 Characterization of damage to photosystem I and II a cyanobacterium lacking detectable iron superoxide dismutase activity. *Proceedings. USA Academy of Sciences* 89: 8716-8720.
- HIDALGO, M.E., FERNÁNDEZ, E., QUILHOT, W. y LISSI, E.A.  
1992 Solubilization and photophysical and photochemical behaviour of depsides and depsidones in water and Brij-35 solutions at different pH values. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 67: 245.
- HIDALGO, M.E., FERNÁNDEZ, E., QUILHOT, W. y LISSI, E.A.  
1994 Antioxidant capacity of depsides and depsidones. *Phytochemistry* 37: 1585-1587.
- HOLM-HANSEN, O., LUBLIN, D. y HEBLING, W.  
1993 Ultraviolet radiation and its effects on organisms in aquatic environments. In: *Environmental UV Photobiology*. (A.P. Young, L.E. Bjorn, J. Moen & W. Nutsch, eds.) Plenum Press.
- KARENTZ, D., BOSH, I. y DUNLAP, W.  
1992 Distribution of UV absorbing compounds in the antarctic limpet, *Nacella concinna*. *Antarctic J.* 27: 121-122.
- KULANDAIVELU, G. y NOORUDEN, A.M.  
1983 Comparative study of the action of ultraviolet-C and ultraviolet-B radiation on photosynthetic electron transport. *Physiol. Plantarum* 58: 389-394.
- MARKHAM, K.R., FRANKE, A., GIVEN, D.R. y BROWNSAY, T.  
1990 Historical antarctic ozone level trends from herbarium specimens flavonoids. *Bull. Lias. Group Polyphenols* 15: 230-235.
- MCKENZIE, R., CONNOR, B. y BODEKER, G.  
1999 Increased summertime UV radiation in New Zealand in response to ozone loss. *Science* 285: 1709-1711.
- QUILHOT, W., DIDYK, B., GAMBARO, V. y GARBARINO, J.A.  
1983 Studies on Chilean lichens. VI. Depsidones from *Erioderma chilense*. *J. Nat. Prod.* 46: 942-943.
- QUILHOT, W., PEÑA, W., FLORES, E., HIDALGO, M.E., FERNÁNDEZ, E. y LEIGHTON, G.  
1991a Temporal variation in usnic acid concentration in *Usnea aurantiaco-ater*. *Ser. Cient. INACH* 5: 99-106.
- QUILHOT, W., SAGREDO, M.G., CAMPALANS, E., HIDALGO, M.E., PEÑA, W., FERNÁNDEZ, E. y PIOVANO, M.  
1991b Quantitative variation of phenolic compounds related to thallus age in *Umbilicaria antarctica*. *Ser. Cient. INACH* 41: 91-97.
- QUILHOT, W., FERNÁNDEZ, E., RUBIO, C., CAVIERES, M.F., HIDALGO, M.E., GODDARD, M. y GALLOWAY, D.J.  
1996 Preliminary data on the accumulation of usnic acid related to ozone depletion in two antarctic lichens. *Ser. Cient. INACH* 46: 105-111.
- QUILHOT, W., FERNÁNDEZ, E., RUBIO, C., GODDARD, M. e HIDALGO, M.E.  
1998 Lichen secondary products and their importance in environmental studies. In: *Lichenology in Latin America: history, current knowledge and applications* (M. Marcelli & R.D.H. Seaward, eds.); p. 171-179, CETEBS, Sao Paulo.
- RANDEL, W.J., STALARSKI, R.S., CUNNOLD, D.M., LOGAN, J.A. y ZAWODNY, J.M.  
1999 Trends in the vertical distribution of ozone. *Science* 285: 1689-1692.
- RUBIO, C., FERNÁNDEZ, E., HIDALGO, M.E. y QUILHOT, W.  
2001 Effects of solar UV radiation in the accumulation of rhizocarpic acid in a lichen species from alpine zones of Chile. *Bol. Soc. Chil. Quím.* (en prensa).

SWANSON, A. y FAHSELT, D.

1997 Effects of ultraviolet on polyphenols of *Umbilicaria americana*. *Can. J. Bot.* 75: 284-289.

VICENTE, C., RUIZ, J.L. y ESTÉVEZ, M.P.

1980 Mobilization of usnic acid in *Evernia prunastri* under critical conditions of nutrient availability. *Phyton* 39: 15-20.

Contribución recibida: 01.08.01; aceptada: 25.10.01