

**Actividad biológica de dos especies líquénicas frente a hongos fitopatógenos**  
**Biological activity of two lichen species against phytopathogenic fungi**

**Autores**

Lic. Noryaysi Abreu-Romero, <https://orcid.org/0000-0003-4390-5814>

MSc. Irliadis Urgellés-Cardoza, <https://orcid.org/0000-0002-3387-2943>

Lic Lázaro Manuel Cotilla-Pelier, <https://orcid.org/0000-0003-1922-8753>

Lic. Arleis Abreu-Romero, <https://orcid.org/0000-0002-0489-5943>

Lic. Norbelis Abreu-Romero, <https://orcid.org/0000-0003-0612-3493>

**Filiación:** Departamento de Tecnología Sostenible y Desarrollo de Nuevos Productos del Centro de Desarrollo de la Montaña Limonar de Monte Ruz, El Salvador, Guantánamo, Cuba.

**E-mail:** [noryaysi@cdm.qtmo.inf.cu](mailto:noryaysi@cdm.qtmo.inf.cu)

**Fecha de recibido:** 17 oct. 2023

**Fecha de aprobado:** 21 dic. 2023

**Resumen**

Las sustancias líquénicas presentan una amplia gama de actividades biológicas, entre ellas, acción antimicrobiana, antitumoral, herbicida e insecticida. El presente trabajo tuvo como objetivo, evaluar la actividad biológica de dos especies líquénicas, frente a cepas de los hongos fitopatógenos *Phytophthora palmivora* y *Fusarium sp.* Se empleó el método de inhibición zonal en placas, mediante la siembra de discos de micelio de 3 mm de diámetro en forma invertida, en el centro de placas Petri con 20 mL de medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA). En el medio de cultivo contenido en cada placa, se realizaron tres perforaciones de 5 mm de diámetro, en las cuales se depositó el extracto de cada especie. Como resultado, los extractos de la especie *Usnea sp.* inhibieron el crecimiento de ambas cepas, con diferencia significativa respecto al control, mientras que los extractos de la especie *Cladonia didyma* solo inhibieron el crecimiento micelial de *Phytophthora palmivora*.

**Palabras clave:** Actividad biológica; Inhibición; *Usnea sp.*; *Cladonia didyma*; *Phytophthora palmivora*; *Fusarium sp.*

**Abstract**

Lichen substances have a wide range of biological activities, including antimicrobial, antitumor, herbicidal and insecticidal action. The objective of this work was to evaluate the biological activity of two lichen species against strains of the phytopathogenic fungi *Phytophthora palmivora* and *Fusarium sp.* The zonal inhibition method was used in plates, by sowing mycelium discs of 3 mm in diameter inverted, in the center of Petri dishes with 20 mL of Potato-Dextrose-Agar (PDA) medium. In the culture medium contained in each plate, three 5 mm diameter holes were made, in which the extract of each species was deposited. As a result, extracts from the species *Usnea sp.* inhibited the growth of both strains, with a significant difference compared to the control, while the extracts of the *Cladonia didyma* species only inhibited the mycelial growth of *Phytophthora palmivora*.

**Keywords:** Biological activity; Inhibition; *Usnea sp.*; *Cladonia didyma*; *Phytophthora palmivora*; *Fusarium sp.*

## **Introducción**

Los líquenes son organismos formados por la simbiosis de un hongo filamentoso y un alga microscópica (clorofita o cianobacteria). En esta asociación, el hongo recibe el nombre de micobiontes y el componente fotosintético se denomina fotobionte (Gunasekaran et al., 2016). No obstante, investigaciones recientes indican una relación aún más compleja en la que se puede considerar al líquen como un microhábitat o ecosistema autosuficiente donde interactúan varias especies de hongos, algas y bacterias con una contribución diferencial en la relación simbiótica (Hawksworth y Grube 2020, Nazem et al. 2021, Soto et al. 2021, Spribille et al. 2016).

Los fitopatógenos transmitidos por el suelo pueden incluir un grupo diverso de organismos que incluyen bacterias, hongos, virus y nematodos; sin embargo, los hongos son los más importantes, al causar un gran número de enfermedades que provocan pérdidas agrícolas significativas. Los hongos más importantes del suelo incluyen *Fusarium sp.*, *Phytophthora sp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sp.*, *Slerotium rolfsii*, *Thielaviopsis basicola* y *Verticillium dahlia*.

En la actualidad se buscan alternativas agroecológicas para el manejo de las plagas que afectan cultivos de cardinal importancia para la economía del país como el café, el cacao y las hortalizas, cuyos niveles productivos presentan severas afectaciones en los últimos años (Trabuco, Gómez y Ramírez, 2015).

Una alternativa atractiva para el control de fitopatógenos, son los productos basados en extractos obtenidos de diversas fuentes naturales. Dentro de estas fuentes, los líquenes se perfilan como candidatos promisorios, dada la amplia gama de sustancias bioactivas que sintetizan.

Sobre esta base, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad biológica de extractos de dos especies liquénicas frente a cepas de hongos fitopatógenos de importancia económica.

## **Materiales y métodos**

Para la realización de la investigación se seleccionaron las especies liquénica *Usnea sp.* y *Cladonia didyma*. Los productos a evaluar consistieron en extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de las especies liquénicas, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento

**Obtención de los extractos:** las muestras del talo liquénico de cada espécimen, se lavaron con abundante agua y se secaron en estufa a 30 °C durante 48 horas. Luego se pulverizaron y se extrajeron con disolución alcohol etílico: agua (proporción 9:1) durante 48 horas, con agitación. Posteriormente, se filtró y se rotoevaporó al vacío hasta la obtención de los extractos crudos, los cuales se envasaron en frascos de vidrio de color ámbar y se conservaron en refrigeración hasta el momento de los bioensayos.

## **Bioensayos de actividad antifúngica *in vitro*:**

Para evaluar el efecto de los extractos sobre el crecimiento micelial de las cepas de hongos fitopatógenos seleccionadas, se empleó el método de inhibición zonal en placas, mediante la siembra de discos de micelio de 3 mm de diámetro en forma invertida, en el centro de placas Petri con 20 mL de medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA). En cada caso el extracto se depositó

en 3 perforaciones de 5 mm de diámetro, realizadas en el medio de cultivo contenido en cada placa.

Los extractos se evaluaron frente a las siguientes cepas de hongos fitopatógenos:

- *Fusarium sp*
- *Phytophthora palmivora*

En todos los casos se utilizaron los extractos a la concentración del 15%.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, donde los factores de variación fueron las cepas de hongos fitopatógenos y los extractos de las especies líquénicas.

Cada tratamiento se replicó 3 veces con un tratamiento control en el que se utilizó etanol.

Las placas se incubaron a 24 °C durante 168 horas, durante las cuales se midió el crecimiento radial de las colonias.

Para la interpretación de los resultados, los datos se sometieron a Análisis de Varianza y las medias se compararon aplicando la prueba de Student Newman Keuls ( $p < 0.05$ ).

### Resultados y discusión.

Los extractos de la especie *Cladonia didyma*, inhibieron el crecimiento micelial de la cepa de *P. palmivora* a las 168 horas, el cual fue significativamente menor que el observado al aplicar el tratamiento control (tabla 1).

**Tabla 1.** Crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos a las 168 horas, frente al extracto al 15% de *Cladonia didyma* con respecto al control\*.

Tratamientos	Crecimiento Micelial (cm)	
	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Phytophthora palmivora</i>
Control	2.66a	2.83a
Extracto hidroalcohólico 15%	2.00a	1.96b
Es x	0.04	0.14

\*Medias con letras comunes no difieren significativamente para  $p < 0.05$ , según la Prueba de Student Newman Keuls.

Por su parte, los extractos de *Usnea sp* inhibieron el crecimiento tanto de *Fusarium sp.* como de *Phytophthora palmivora* a las 168 horas de aplicados (tabla 2).

**Tabla 2.** Crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos a las 168 horas, frente al extracto *Usnea sp.* al 15% con respecto al control\*.

Tratamientos	Crecimiento Micelial (cm)	
	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Phytophthora palmivora</i>
Control	2.66a	2.83a
Extracto hidroalcohólico 15%	1.70b	1.56b
Es x	0.07	0.18

\*Medias con letras comunes no difieren significativamente para  $p < 0.05$ , según la Prueba de Student Newman Keuls.

Otro hongo liquenizado con una marcada actividad fungicida fue *Parmelia sulcata*, que en dosis bajas (0,0037 mg/ml), inhibió el crecimiento de *Fusarium oxysporum*, *Botritis cinérea* y *Aspergillus fumigatus* (Rankovic y Kosanic, 2012)

En sentido general, podemos decir que la especie *Usnea sp* tuvo una marcada actividad inhibitoria con respecto a la especie *Cladonia didyma*, que solo provocó un efecto sobre la cepa *Phytophthora palmivora*

La actividad biológica de los extractos está relacionada directamente con las sustancias liquénicas que lo componen. Sobre la base de estudios previos se ha determinado también que la toxicidad y el grado de sensibilidad que presentan las cepas frente a un extracto varía de acuerdo con la concentración utilizada obteniendo mejores resultados a concentraciones mayores (Vaillant *et al* 2015).

Los estudios de numerosos autores demuestran una marcada actividad antimicrobiana de las especies liquénicas pertenecientes al género *Parmotrema*, entre estas, el propio *Parmotrema dilatatum*, *Parmotrema tinctorum*, *Parmotrema praesorediosum* y *Parmotrema cristiferum*. Dicha actividad biológica se debe, en gran medida, a la presencia en las especies de este género de metabolitos secundarios del tipo de los dépsidos y depsidonas (Vaillant, *et al* 2014).

A partir del conocimiento de la relevante actividad antimicrobiana que presentan las sustancias liquénicas, las industrias farmacéutica y agroquímica mostraron gran interés por los líquenes; sin embargo, por las características propias de estos organismos, de presentar un lento crecimiento en medio natural, no se pueden producir a escala industrial un gran número de los metabolitos liquénicos. Por esta razón, en la actualidad se desarrollan diferentes metodologías para el cultivo de líquenes o del micobiontes para lograr la producción controlada de estas sustancias, sin afectar la prevalencia de las especies liquénicas en la naturaleza.

Todos los estudios anteriormente citados permiten visualizar a los líquenes como posible alternativa futura en la producción de bioplaguicidas. Aún quedan investigaciones por realizar relacionadas fundamentalmente con el establecimiento de una metodología de cultivo y producción, y la obtención de formulados para su uso en la práctica agrícola.

### **Conclusiones**

Los resultados mostraron el potencial antifúngico líquenes una vez que produjeron sustancias capaces de inhibir el crecimiento de hongos patógenos causadores de enfermedades, destacándose los extractos de la especie de *Usnea sp*, que mostraron mayor potencial inhibitorio para ambas cepas fitopatógenos.

Los líquenes se visualizan como posible alternativa para disminuir la aparición de hongos patógenos causantes de enfermedades, dada la amplia gama de sustancias bioactivas que sintetizan.

### **Bibliografía**

Gunasekaran, S., Pillai Rajan, V., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Samsudin, M. W., & Din, L. (2016). Antibacterial and Antioxidant Activity of Lichens *Usnea rubrotincta*,

- Ramalina dumeticola, Cladonia verticillata and Their Chemical Constituents. Malaysian Journal of Analytical Science, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2001-01>
- Hawksworth D, Grube M. 2020. Lichens redefined as complex ecosystems. New Phytol. 227: 1281-128. doi: 10.1111/nph.16630
- Nazem H, Hom E, Warden A, Mathews S, Gueidan C. 2021. Towards a Systems Biology Approach to Understanding the Lichen Symbiosis: Opportunities and Challenges of Implementing Network Modelling. Front. Microbiol. 12:667864. doi: 10.3389/fmicb.2021.66786
- Rankovic, R., and M. Kosanic. 2012. Antimicrobial activities of diferent extracts of Lecanoraatra, Lecanoramuralis, Parmeliasaxtilis, Parmelia sulcata and Parmeliopsis ambigua. Pak. J. Bota. 44:429-433.
- Soto E, Díaz D, Montaña J. 2021. Biogeografía y riqueza de los líquenes de Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. doi: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1224>
- Spribille T, Tuovinen V, Resl P, Vanderpool D, Wolinski H, Aime C, Schneider K, Stabentheiner E, Toome M, Thor G, Mayrhofer H, Johannesson H, McCutcheon J. 2016. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. Sci. 353(6298): 488–492. doi:10.1126/science.aaf8287
- Trabuco, Miriam B.; Gómez, V.A.; Ramírez, María B. 2015. Evaluación de extractos vegetales para el control de la palomilla del tomate Tuta absoluta (Meyrick) en condiciones de invernadero. Investig. Agrar., 17(2): 138-142.
- Vaillant - Flores I, Roméu R, Gómez m, Ramírez R. (2014). Actividad fungicida del hongo liquenizado Loxospora pustulata sobre Rhizocto niasolani. Re-vista de Ciencia y Tecnología. 21: 12-14.
- Vaillant-Flores D, Gómez-Peralta M, Roméu-Carballo C, Ramírez-Ochoa R, Porras-González A. Actividad antifúngica de extractos de tres especies de líquenes en Cuba. Agron Mesoamericana. 2015; 26(2):345-350.