

APLICACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS E INTERPRETACIÓN DE LAS VARIACIONES QUÍMICAS EN LÍQUENES

por
ESTEBAN MANRIQUE REOL *

Resumen

MANRIQUE REOL, E. (1989). Aplicación de técnicas analíticas e interpretación de las variaciones químicas en líquenes. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(1): 249-257.

El tratamiento que ha recibido el uso de los caracteres químicos de los líquenes en su taxonomía ha cambiado mucho desde el momento en que se descubrieron. Esta evolución no puede comprenderse si a la vez no se realiza un análisis del paulatino desarrollo de las técnicas aplicadas a la investigación en general y al estudio de las sustancias liquénicas en particular. Por supuesto, este proceso no es exclusivo del tema que aquí nos ocupa, sino que se puede decir que ha sido un proceso general para todas las formas del pensar científico. También se discute aquí la interpretación que se viene haciendo de los últimos hallazgos en la química de los líquenes.

Palabras clave: Técnicas analíticas, líquenes, variaciones químicas.

Abstract

MANRIQUE REOL, E. (1989). Analytical techniques and the interpretation of chemical variations in lichens. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(1): 249-257 (in Spanish).

The way in which the chemical characters have been used in lichen taxonomy has changed a lot since they were discovered. This evolution cannot be understood without a simultaneous analysis of the new techniques used in the research in general and in the study of the lichen substances specially. Of course, this is not an exclusive process in lichenology, but a general process involved in scientific thought. Also discussed here is the interpretation of the last findings in the lichen chemistry.

Key words: Analytical techniques, lichens, chemical variation.

Una de las características que conlleva la interacción entre un hongo y un alga para constituir un talo liquénico es la aparición de una serie de productos del metabolismo secundario que se depositan en grandes cantidades, en forma de diminutos cristales, sobre las hifas del micobionte. Hasta donde se conoce, parece ser el componente fúngico el responsable de la síntesis de tales productos secundarios, aunque hay quien ha sugerido la idea de que el alga también tendría algo que aportar a la hora de la definición última en la composición química del talo liquénico, basándose en el hecho de que, en aquellos líquenes con cefalodios (ASAHINA, 1967, 1969), las áreas cercanas a estas estructuras están exentas de este

* Departamento de Biología Vegetal II, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. 28040 Madrid.

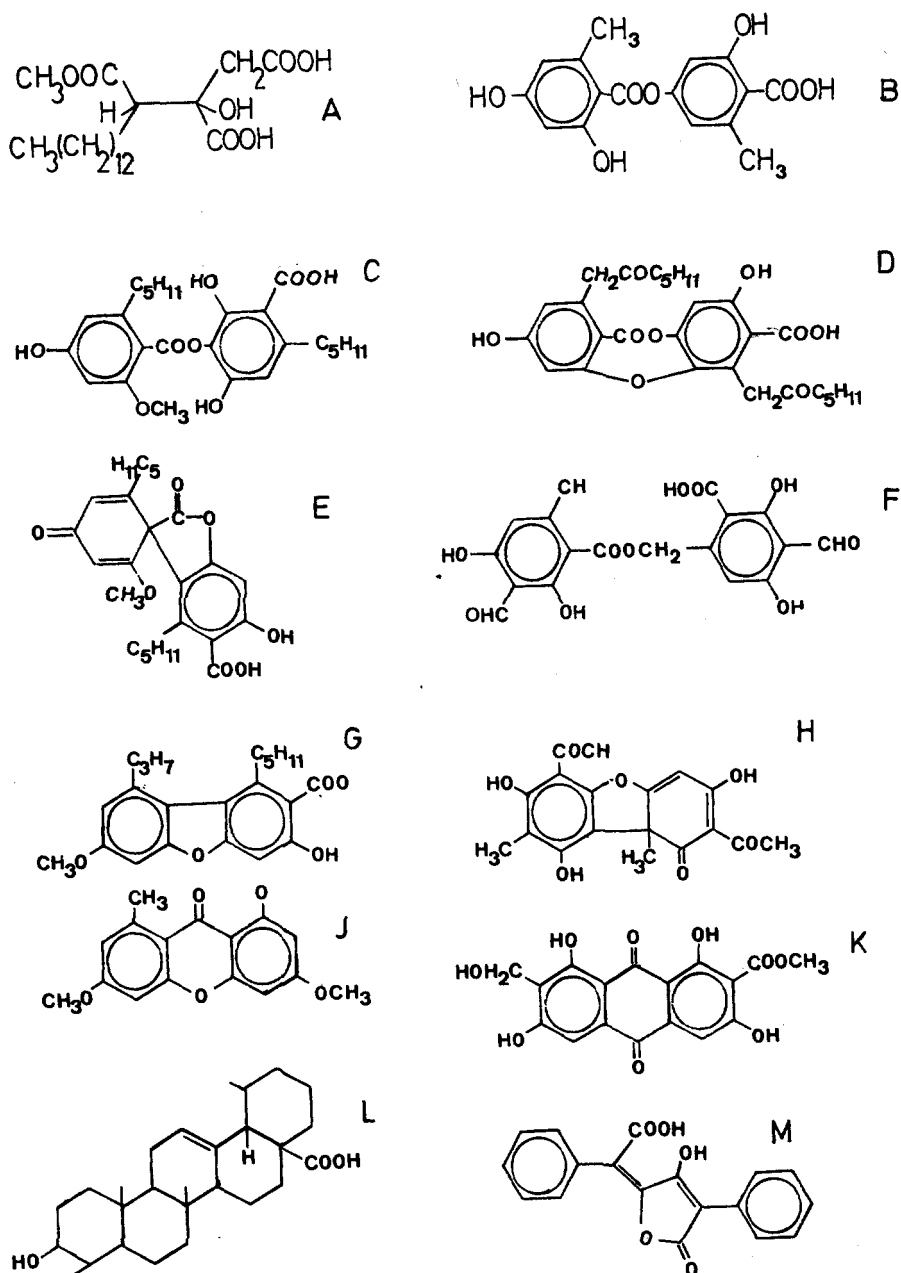


Fig. 1.—Estructura química de algunos ejemplos de sustancias liquénicas: A, ácido caperático (ácido alifático); B, ácido lecanórico (paradépsido); C, ácido criptochlorofaeico (metadépsido); D, ácido alectorónico (depsidona); E, ácido picrolíquénico (depsona); F, ácido barbatólico (éster bencilico); G, ácido didímico (dibenzofurano); H, ácido usneico; J, ácido xantonina (xantonina); K, ácido rododactílico (antraquinona); L, ácido ursólico (triterpeno); M, ácido pulvínico. Fórmulas según CULBERSON (1969).

tipo de sustancias. No obstante, CULBERSON & *al.* (1985) han demostrado que la composición química de los líquenes está determinada por la constitución genética del componente fúngico. Además, la composición química cualitativa no parece verse modificada ni por la composición del sustrato ni por condiciones microambientales. Todo esto ha permitido el uso de estos metabolitos secundarios como buenos caracteres taxonómicos en muchos grupos de líquenes. No obstante, la utilización de estos caracteres químicos aún no está suficientemente clara, existiendo disparidad en la importancia que se les debe de conceder y en el rango taxonómico que se debe aplicar para aquellas diferencias químicas entre especímenes morfológicamente idénticos de una misma especie (HAWKSWORTH, 1976; HAWKSWORTH & HILL, 1984; HALE, 1983).

Por lo general, la gran mayoría de las especies liquénicas reconocidas morfológicamente poseen además una composición química constante; pero dentro de algunas especies se pueden diferenciar dos o más quimiotipos, que a su vez pueden ser ecológica o geográficamente distintos. En este último aspecto es en el que las técnicas han jugado un papel muy importante, permitiendo el análisis de los mismos y el estudio de poblaciones numerosas.

Hasta el momento se han descrito unos 350 metabolitos secundarios, entre los que se encuentran productos tales como ácidos alifáticos, para y metadépsidos, depsidonas, ésteres bencílicos, dibenzofuranos, ácidos usneicos, xantonas, antraquinonas, terpenoides y derivados del ácido pulvínico (fig. 1).

De entre todas estas sustancias, son los dépsidos (para y meta), las depsidonas y los ácidos úsneicos hacia los que los liquenólogos han dirigido principalmente su atención, por tratarse de compuestos que solo se han encontrado en los líquenes, con la salvedad de algunos pocos que han sido descritos también en hongos no liquenizados, como el ácido lecanórico (paradépsido), presente en *Pyricularia*. No obstante, se ha comprobado que cuando estas sustancias se presentan en hongos no liquenizados lo hacen siempre en muy bajas concentraciones.

Desde el momento en que William Nylander descubriera en 1866 que la aplicación de pequeñas cantidades de reactivos químicos, tales como una solución acuosa de hidróxido potásico al 30-40% (K) o de hipoclorito cálcico o sódico (C), sobre el córtex o la médula del talo liquénico, producían en muchos de los casos un cambio de color en la zona de aplicación, y que estas reacciones coloreadas podría usarlas para diferenciar dos especies próximas entre sí, los liquenólogos no han dudado en aplicar las técnicas disponibles a su alcance ni en usar aquellos productos químicos capaces de reaccionar de manera específica con las sustancias liquénicas, con el fin de estudiar y comprender mejor el papel que este tipo de metabolitos tienen en la biología de los líquenes, tanto desde el punto de vista taxonómico, como fisiológico y adaptativo.

Tras el conocimiento de que los líquenes poseían esas sustancias capaces de reaccionar y producir diferentes colores con algunos reactivos, químicos y liquenólogos se lanzaron a estudiar este fenómeno y a tratar de averiguar la estructura de estas sustancias. El primer paso en este sentido lo dio el químico-liquenólogo Yasuhiko Asahina, introduciendo un nuevo reactivo, una solución alcohólica o acuosa, a saturación, de parafenilendiamina (PD o P), capaz de producir reacciones coloreadas con aquellas sustancias que poseen un grupo aldehído en su molécula. Además, utiliza por primera vez la cromatografía en papel como un micro-método para la separación y detección de las sustancias liquénicas y desarrolla téc-

nicas de microcristalización que le permitieron la determinación de los compuestos líquénicos según la morfología de los cristales. No obstante, la microcristalización presenta numerosos problemas, principalmente debidos a la presencia de sustancias en muy bajas concentraciones que interfieren en la formación de los cristales de mayor concentración. ASAHINA & SHIBATA (1954) publicaron una extensa monografía en la que quedaron recogidas todas sus investigaciones en este campo. La monografía de Asahina representó un gran paso adelante en la quimiotaxonomía de los líquenes, dando a conocer técnicas fáciles de usar rutinariamente por otros liquenólogos.

Las técnicas aportadas a la liquenología por Asahina, aunque representaron un gran avance, no permitieron sino descubrir únicamente aquellas sustancias presentes en altas concentraciones. En este punto jugó un importante papel una técnica nueva, la cromatografía en capa fina (TLC), con mucha mayor sensibilidad y capacidad resolutoria, que, aunque conocida con anterioridad, no fue aplicada al estudio de la química de los líquenes hasta el comienzo de la década de los setenta (CULBERSON & KRISTINSON, 1970; CULBERSON, 1972; MENLOVE, 1974; CULBERSON & AMMANN, 1979). Esta técnica permitió el descubrimiento y caracterización de sustancias nuevas que habían pasado inadvertidas, mediante el uso de la cromatografía en papel, quizá por problemas de solapamiento o por bajas concentraciones.

Hasta hace no mucho tiempo, el objetivo principal de los estudios químicos en líquenes era la caracterización química cualitativa de los mismos en su sentido más estricto, el de conocer las diferencias entre unas especies y otras o entre los individuos de una misma especie, con el fin de ser utilizadas o evaluadas como caracteres taxonómicos. No obstante, dentro del grupo de metabolitos secundarios de los dépsidos y depsidonas se pueden establecer líneas biogénéticas que relacionan entre sí a ciertas sustancias que difieren únicamente en pequeñas modificaciones en sus respectivas moléculas, de carácter progresivo, como el diferente grado de oxidación del sustituyente en el carbono 3 del anillo A y del carbono 3' del anillo B o la diferente longitud de la cadena sustituyente en los carbonos 6 y 6' (CULBERSON, 1969, 1986). Según CULBERSON & CULBERSON (1976), estas sustancias, tan relacionadas estructuralmente entre sí, podrían pertenecer a una misma ruta biosintética, en la que en cada paso se añadiría una modificación a la molécula o a cada una de sus mitades ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{COOH}$), asumiendo lo indicado por SMITH (1978), esto es, las sustancias más complejas necesitarían mayor número de pasos en sus rutas biosintéticas. Según este esquema, HUOVINEN & AHTI (1982) propusieron un modelo biosecuencial de formación de dépsidos, depsidonas y dibenzofuranos en el género *Cladonia*.

La cromatografía en capa fina, bidimensional, aplicada al estudio de la composición química de los líquenes por CULBERSON & JOHNSON (1976), permite precisamente buscar esas relaciones biogénéticas entre las diferentes sustancias encontradas en individuos de la misma especie o en especies distintas. Las sustancias así relacionadas migran sobre la placa de cromatografía sometida a dos disolventes distintos, según una misma línea recta.

Estas sustancias que constituyen una misma línea biogénética, se presentan unas en mayor concentración que otras, de tal forma que las más concentradas en una especie pasan a ser las de menor concentración o a estar ausentes en todos o en algunos especímenes analizados de otra especie (sustancias secundarias) muy

relacionada con la anterior. Este hecho se encontró por primera vez en las especies del género *Cetrelia* (CULBERSON & CULBERSON, 1978).

La introducción de la cromatografía de alto rendimiento (HPLC) aplicada a este problema de las sustancias biogenéticamente relacionadas, ha constituido una auténtica revolución, permitiendo la detección de sustancias en muy bajas concentraciones o sustancias traza (CULBERSON, 1972; CULBERSON & *al.*, 1987), que habían pasado inadvertidas hasta entonces. Más aún, la aplicación directa de fragmentos de talos liquénicos a la espectrometría de masas (MS) y la combinación entre HPLC-MS, han permitido actualmente no sólo un elevado grado de precisión en la detección de las sustancias liquénicas, sino también en la determinación de las estructuras de las mismas, afianzando su identificación (HUNECK & *al.*, 1968; SANTESSON, 1973; LEUCKERT, 1984).

Hasta el presente se han realizado gran cantidad de análisis de especies de líquenes de todo el mundo, utilizando en cada caso los métodos al alcance de los liquenólogos. Los análisis realizados hasta hace unos diez años han quedado recogidos en una gran monografía con dos suplementos, obra capital para todo aquel que quiera dedicarse a la quimiotaonomía (CULBERSON, 1968, 1970; CULBERSON & *al.*, 1977).

Actualmente se puede decir que las sustancias liquénicas pueden presentarse de dos formas en los talos: solitarias, en una única sustancia, generalmente de estructura sencilla, o en una combinación de sustancias relacionadas biogenéticamente, en la que unas presentan mucha mayor concentración que otras. A esto último es a lo que CULBERSON & CULBERSON (1976) denominaron como un quimiosíndrome, esto es, un conjunto de "síntomas" químicos que caracterizarían una especie. En el primero de los casos, las sustancias son evaluables taxonómicamente como caracteres químicos individuales, mientras que en el segundo la sustancia individual es menos importante como carácter taxonómico que el quimiosíndrome completo.

LEUCKERT (1985) reconoció dos tipos de quimiosíndromes: simple o serie, si los compuestos muestran una alteración gradual (grado de cloración, O-metilación, oxidación, etc.), y complejo, si hay una combinación de diferentes formas de alteración (longitud de las cadenas laterales, grado de oxidación de estas cadenas, o una combinación de las modificaciones simples).

El problema que ahora se plantea es la utilidad que pueda tener la química en la taxonomía liquénica. Pero desde luego, el carácter químico no es el único que ha tenido este problema. En este sentido, HAWKSWORTH (1976) realizó una extensa revisión de los usos de los caracteres químicos, tanto a nivel específico como supraespecífico e infraespecífico, proponiendo además una tabla de correlación con otros tipos de caracteres, según la cual se asignaban niveles taxonómicos a diferentes tipos de correlación. Este autor da mucha importancia al hecho de si las sustancias nuevas están o no relacionadas biogenéticamente, y para el caso en que no lo estén, si además existe correlación con diferencias morfológicas o geográficas, le asigna al taxon tratado un nivel específico. Según esto, el hallazgo de una diferencia química sólo implicaría la necesidad de buscar otros caracteres evaluables, que en la mayoría de los casos también han sufrido procesos de discusión similares, como los soledios, el tamaño de la espora, el tipo de córtex y muy recientemente la estructura del aparato apertural del asco (HAFELLNER, 1984). Para BRODO (1986), todo carácter nuevo debe ser examinado para

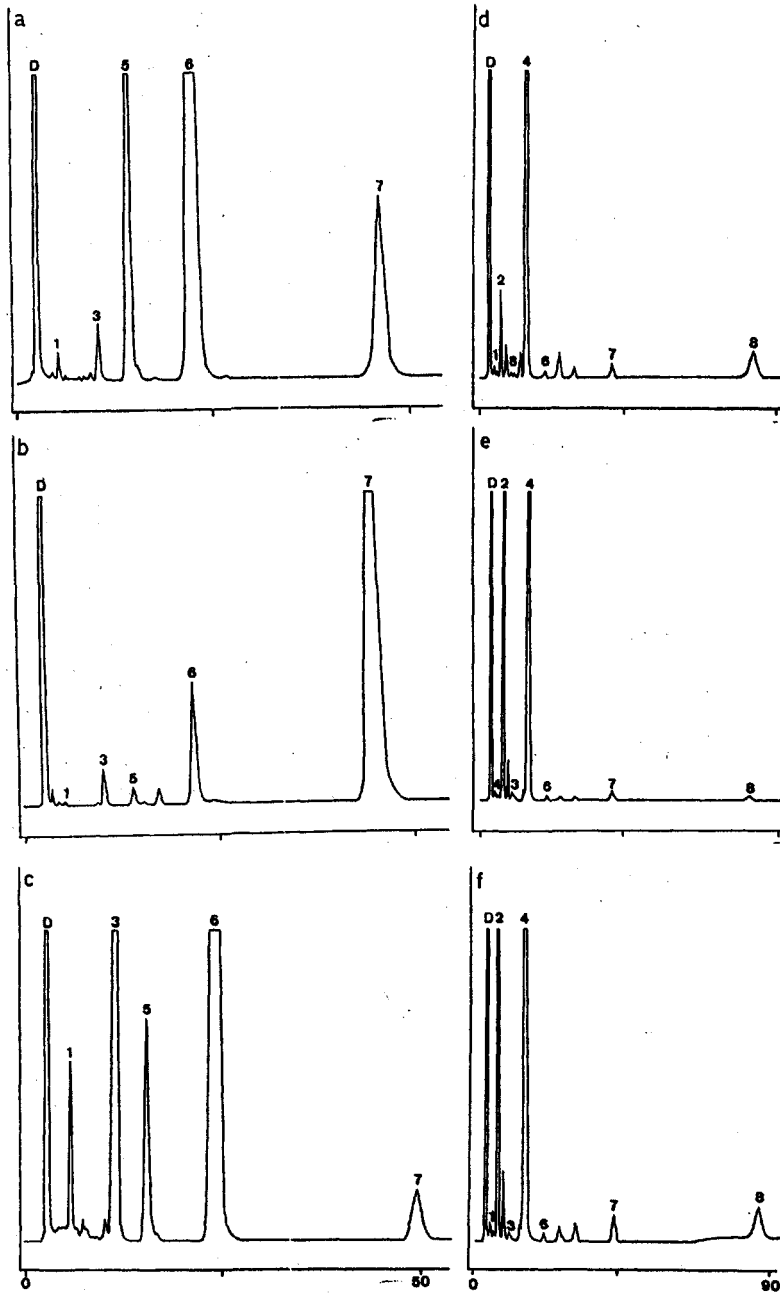


Fig. 2.—Cromatogramas de HPLC de algunos especímenes del grupo de *Parmelia pulla*: a) *Parmelia pulla* tipo 1; b) *P. pulla* tipo 2; c) *P. verruculifera*; d) *P. delisei* tipo 1; e) *P. delisei* tipo 2; f) *P. loxodes*. D, disolvente; 1, ácido lecanórico; 2, ácido gloméllico; 3, ácido girofórico; 4, ácido glomelliférico; 5, ácido oxoestenospórico; 6, ácido divericático; 7, ácido estenospórico; 8, ácido perlatólico.

comprobar su correlación con otras características y si permanece estable bajo diferentes condiciones ambientales.

Para aquellos líquenes en los que las diferencias químicas no son correlacionables con ninguna otra característica, se plantean otros tipos de problemas. La edad del talo, la hibridación, la individualidad del talo, la significancia de la dicariosis sobre la monocariosis y el hábitat, son, entre otros, factores que se han tenido en cuenta a la hora de explicar algunos tipos de variaciones químicas en talos morfológicamente idénticos (CULBERSON & CULBERSON, 1958; BRODO, 1978; KROG & SWINSCOW, 1981; LARSON & CAREY, 1986).

CULBERSON & *al.* (1977) observan cómo las poblaciones de líquenes dentro del grupo *Parmelia pulla*, y para quimiosíndromes idénticos, son mucho más estables, en lo que a las concentraciones relativas de las sustancias del quimiosíndrome se refiere, en las especies que presentan predominancia de la reproducción asexual (isidiadas). Nosotros, MANRIQUE & RICO (datos aún no publicados), tras el análisis por técnicas de TLC y HPLC de numerosas poblaciones de algunas especies del grupo *Parmelia pulla* del centro de la Península Ibérica [*P. pulla* Ach. s. str., *P. verruculifera* Nyl., *P. delisei* (Duby) Nyl. y *P. loxodes* Nyl.], hemos encontrado en *P. pulla* s. str. dos razas químicas que difieren en las concentraciones relativas de los ácidos divaricático y estenospórico, estando en mayor proporción el primero (72%) en una de ellas y el segundo (85%) en la otra. Esta especie nunca presenta isidios, produciendo casi siempre apotecios. Por el contrario, el par isidiado de *P. pulla*, *P. verruculifera*, aunque siempre contiene los mismos ácidos, absolutamente en todos los casos, la concentración de ácido divaricático siempre está muy por encima (81%) de la del ácido estenospórico (7%). Otro tanto ocurre con el par de especies *P. delisei*-*P. loxodes* (no isidiado-isidiado), en lo que respecta a la distribución de los ácidos gloméllico y glomelliférico (fig. 2). Esto es, la reproducción sexual parece implicar una mezcla de caracteres que resultaría en una alternancia cuantitativa de las sustancias del quimiosíndrome, reflejada en la variabilidad observada. ¿Podría esto querer decir que nos encontramos ante un taxon, *P. pulla* s. str., que está derivando hacia su par no sexual, isidiado, según el concepto de POELT (1970, 1972)? Si esto fuese cierto, además, parece como si solo una de las dos razas químicas de *P. pulla* s. str. es la que adquiere la posibilidad de reproducirse por isidios.

BOWLER & RUNDEL (1975) sugieren que los cambios químicos que se producen en algunas especies de líquenes con reproducción sexual del micobionte, pueden ser el paso previo a la aparición de diásporas vegetativas (isidios o soredios), táxones estos últimos mucho más competitivos que los que poseen reproducción sexual. Estos táxones son idénticos en la morfología talina, a excepción de la presencia-ausencia de isidios. En ciertos grupos de líquenes, las especies con reproducción sexual pueden considerarse como el taxon más antiguo, pudiéndose las asignar diferentes táxones derivados, idénticos en morfología, pero con nueva estrategia reproductiva (isidios, soredios o isidios y soredios), diferenciándose cada una de ellas entre sí por presentar diferencias químicas, generalmente por pertenecer a distintos quimiosíndromes. En otras palabras, para un mismo tipo de reproducción se pueden dar distintos quimiosíndromes, que caracterizarían diferentes líneas evolutivas, y puede que diferentes especies.

En el ejemplo de *Parmelia pulla* gr. me he referido al conjunto de sustancias que constituyen un quimiosíndrome, pero además, en muchos casos, estos qui-

miosíndromes suelen ir acompañados de otros dépsidos y depsidonas no relacionadas biogenéticamente con las del quimiosíndrome. Sustancias como el ácido lecanórico y el ácido girofórico y la atronorina y cloroatranorina, suelen acompañar a los diferentes quimiosíndromes definidos en el grupo *P. pulla*. ¿Se modifican sus concentraciones relativas de modo paralelo a como lo hacen los componentes del quimiosíndrome o permanecen constantes, mostrando así su independencia?

El hecho de que en *P. pulla* s. str. se den dos claras variaciones quimiosindrómicas pudiera indicar que, las en vías metabólicas de síntesis de las sustancias líquénicas, cada paso estaría controlado por un enzima, con diferente actividad según el quimiosíndrome de que se trate. Esta evidencia está claramente en contraposición a la teoría de los enzimas con especificidad parcial por los sustratos de CULBERSON & CULBERSON (1976).

Lo dicho hasta el momento parece dejar claro que la evaluación de los caracteres químicos ha de hacerse teniendo siempre en cuenta el grupo de líquenes en el que se quieren aplicar. Lo que además queda claro es que aún no está todo hecho ni dicho en lo que a la química de los líquenes se refiere. Los estudios de cómo aparecen los datos químicos en poblaciones de líquenes aportarán en un futuro muchas nuevas evidencias que nos ayudarán a comprender cuál es la función sistemática, fisiológica o adaptativa de estos productos del metabolismo secundario de los líquenes.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a Víctor J. Rico por las fructíferas discusiones sobre el tema, la lectura y la preparación del manuscrito. Al profesor C. Leuckert, por sus sugerencias. A la Comisión Asesora Científica y Técnica, por el soporte financiero para poder desarrollar la quimiotaxonomía de líquenes en España (proyecto 2954/83 CO2-02).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASAHINA, Y. (1967). Lichenologische notizen (205). *J. Jap. Bot.* 42: 289-294.
 ASAHINA, Y. (1969). Lichenologische notizen (217-222). *J. Jap. Bot.* 44: 257-269.
 ASAHINA, Y. & S. SHIBATA (1954). *Chemistry of lichen substances*. Japan Society for the Promotion of Science. Tokyo.
 BOWLER, P. A. & P. W. RUNDELL (1975). Reproductive strategies in lichens. *Bot. J. Linn. Soc.* 70: 325-340.
 BRODO, I. M. (1978). Changing concepts regarding chemical diversity in lichens. *Lichenologist* 10: 1-11.
 BRODO, I. M. (1986). Interpreting chemical variation in lichens for systematic purposes. *Bryologist* 89(2): 132-138.
 CULBERSON, C. F. (1968). *Chemical and botanical guide to lichen products*. The University of North Carolina Press. Chapel Hill.
 CULBERSON, C. F. (1969). *Chemical and Botanical guide to lichen products*. University of North Carolina Press. Chapel Hill.
 CULBERSON, C. F. (1970). Supplement to "Chemical and botanical guide to lichens products". *Bryologist* 73: 177-377.
 CULBERSON, C. F. (1972). Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standard thin-layer chromatographic method. *J. Chromatogr.* 97: 107-108.
 CULBERSON, C. F. (1986). Biogenetic relationships of the lichen substances in the framework of systematics. *Bryologist* 89(2): 91-98.

- CULBERSON, C. F. & K. AMMANN (1979). Standardmethode zur Dünnschichtchromatographie von flechtensubstanzen. *Herzogia* 5: 1-24.
- CULBERSON, W. L. & C. F. CULBERSON (1978). *Cetrelia cetrarioides* and *C. monachorum* (Parmeliaceae) in the new world. *Bryologist* 81(4): 517-523.
- CULBERSON, C. F., W. L. CULBERSON, S. GOWAN & A. JOHNSON (1987). New depsides from lichen: Microchemical methodologies applied to the study of new natural products discovered in herbarium specimens. *Amer. J. Bot.* 74(3): 403-414.
- CULBERSON, C. F. & W. L. CULBERSON (1958). Age and chemical constituents of individuals of the lichen *Lasallia papulosa*. *Lloydia* 21: 189-192.
- CULBERSON, C. F. & W. L. CULBERSON (1976). Chemosyndromic variation in lichens. *Syst. Bot.* 1(4): 325-339.
- CULBERSON, C. F., W. L. CULBERSON & T. L. ESSLINGER (1977). Chemosyndromic variation in the *Parmelia pulla* group. *Bryologist* 80: 125-135.
- CULBERSON, C. F., W. L. CULBERSON & A. JOHNSON (1977). *Second supplement to "Chemical and botanical guide to lichen products"*. The American Bryological and Lichenological Society. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- CULBERSON, C. F., W. L. CULBERSON & A. JOHNSON (1985). Does the symbiont alga determine chemotype in lichens? *Mycologia*, 77(4): 657-660.
- CULBERSON, C. F. & KRISTINSSON (1970). A standardized method for the identification of lichen products. *J. Chromatogr.* 46: 85-93.
- HAFELLNER, J. (1984). Studien in Richtung einer natürlichen Gliederung der Sammelfamilien Lecanoraceae und Lecideaceae. In: H. Hertel & F. Oberwinkler (Eds.), *Beitrage zur Lichenologie. Nova Hedwigia* 79: 241-371.
- HALE, M. E. Jr. (1983). *The biology of lichens*. 3rd ed. Edwar Arnold. London. New York. Melbourne. Baltimore.
- HAWKSWORTH, D. L. (1976). Lichen chemotaxonomy. In: D. H. Brown, D. L. Hawksworth & R. H. Bailey (eds.), *Lichenology: Progress and Problems*: 134-184. Academic Press. London.
- HAWKSWORTH, D. L. & D. J. HILL (1984). *The lichen-forming fungi*. Blackie & Son Ltd., Glasgow and London.
- HUNECK, S., C. DJERASSI, D. BECHER, M. BARDER, M. VON ARDENNE, K. STEINFELDER & R. TUMMLER (1968). Massenspektrometrie von depsiden, depsidonen, depsonen, dibenzofuranen und diphenilbutadienen mit positiven und negativen ionen. *Tetrahedron* 24: 2707-2755.
- HUOVINEN, K. & T. AHTI (1982). Biosequential patterns for the formation of depsides, depsidones and dibenzofurans in the genus *Cladonia* (Lichen-forming ascomycetes). *Ann. Bot. Fenn.* 19: 225-234.
- KROG, H. & T. D. V. SWINSCOW (1981). *Parmelia* subgenus *Amphigymnia* (lichens) in East Africa. *Bull. Brit. Mus. "Natural History", Bot.* 9: 143-231.
- LARSON, D. W. & C. K. CAREY (1986). Phenotypic variation within "individual" talli. *Amer. J. Bot.* 73: 214-223.
- LEUCKERT, C. (1984). Die identifizierung von flechtenstoffen im rahmen chemotaxonomischer routineanalysen. *Nova Hedwigia* 79: 839-869.
- LEUCKERT, C. (1985). Probleme der flechten-chemotaxonomie. Stoffcombinationen und ihre taxonomische Wertung. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 98: 401-408.
- MENLOVE, J. E. (1974). Thin-layer chromatography for the identification of lichen substances. *Bull. Brit. Lichen Soc.* 34: 3-5.
- POELT, J. (1970). Das concept der Artenpaare bei den Flechten. *Ber. Deutsch. Bot. Ges. (N. F.)* 4: 178-198.
- POELT, J. (1972). Die taxonomische Behandlung von Artenpaaren bei den Flechten. *Bot. Not.* 125: 77-81.
- SANTESSON, J. (1973). Identification and isolation of lichen substances. In: V. Ahmadjian & M. E. Hale (eds.), *The Lichens*: 633-652. New York.
- SMITH, P. M. (1978). Chemical evidence in plant taxonomy. In: H. E. STREET (Ed.), *Essay in Plant Taxonomy*: 19-38, Academic Press, London.

Aceptado para publicación: 17-VI-1988