

# Actividad antimicrobiana de líquenes en el campus Belém de la Universidad Federal de Pará, estado de Pará, Brasil

## Antimicrobial activity of lichenized fungi occurring on Belém campus of Universidade Federal do Pará, Pará State, Brazil

Victor Hugo de Carvalho Vieira<sup>1</sup>, Antônia Benedita Rodrigues Vieira<sup>1</sup>, Wandson Braamcamp de Souza Pinheiro<sup>2</sup>, Solange do Perpétuo Socorro Evangelista Costa<sup>1</sup>, Rosildo dos Santos Paiva<sup>1</sup>, Sheyla Mara de Almeida Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, Pará, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Belém, Pará, Brasil

### RESUMEN

**OBJETIVO:** Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos obtenidos a partir de líquenes que ocurren en el campus Belém de la Universidad Federal de Pará, Brasil. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Muestras liquénicas de *Leptogium* sp. y *Parmotrema* sp. fueron sometidas a extracción orgánica por agotamiento a frío, siguiendo la serie eluotrópica cloroformo y acetona. Los extractos obtenidos se probaron frente a cepas de bacterias Gram positivas, Gram negativas y ácido-alcohol resistentes hongos filamentosos y levaduras, empleando el método de disco difusión en agar. Discos de papel se impregnaron con 20 µL de cada extracto en concentración de 4 mg/mL y se depositaron sobre el medio previamente inoculado con los microorganismos prueba. Los resultados fueron evaluados por el diámetro de los halos de inhibición alrededor de los discos. Enseguida, los extractos se sometieron a la cromatografía ascendente en camada delgada y a ensayos bioautográficos para detección de los principios activos. **RESULTADOS:** Hubo mayor potencial antimicrobiano de los extractos de *Parmotrema* sp. con halos de inhibición que variaron de 8 a 12 mm para bacterias y de 8 a 21 mm para hongos. Las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Mycobacterium phlei* presentaron más sensibilidad, ya que fueron inhibidas por las dos especies liquénicas. En relación a los hongos, los más sensibles fueron *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum gypseum* y *Epidermophyton floccosum*. **CONCLUSIÓN:** Este trabajo amplió el conocimiento sobre líquenes de la Región Amazónica y posibilitó la obtención de sustancias antimicrobianas viables para la inhibición del crecimiento de bacterias y hongos de importancia médica.

**Palabras clave:** *Parmotrema* sp.; *Leptogium* sp.; Líquenes; Acción Antimicrobiana.

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** To evaluate the antimicrobial activity of extracts obtained from lichenized fungi occurring in Belém campus of Universidade Federal do Pará, Brazil. **MATERIALS AND METHODS:** Lichenic samples of *Leptogium* sp. and *Parmotrema* sp. were submitted to organic extraction by cold exhaustion, following the eluotropic series chloroform and acetone. The extracts obtained were tested against strains of Gram-positive, Gram-negative and acid-resistant bacteria, filamentous fungi, and yeast using the disk diffusion method in agar. Paper discs were impregnated with 20 µL of each extract at a concentration of 4 mg/mL and placed on the medium previously inoculated with the test microorganisms. The results were evaluated by the diameter of the inhibition halos around the discs. Then, the extracts were submitted to thin layer ascending chromatography and bioautographic assays to detect the active ingredients. **RESULTS:** There was a higher antimicrobial potential of *Parmotrema* sp. with inhibition halos ranging from 8 to 12 mm for bacteria and from 8 to 21 mm for fungi. The bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, and *Mycobacterium phlei* showed higher sensitivity, as they were inhibited by both lichen species. The most sensitive fungi were *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum gypseum*, and *Epidermophyton floccosum*. **CONCLUSION:** This study expanded the knowledge about lichenized fungi of the Amazon Region and proved to be feasible to obtain antimicrobial substances capable of inhibiting the growth of bacteria and fungi of medical importance.

**Keywords:** *Parmotrema* sp.; *Leptogium* sp.; Lichens; Antimicrobial Agents.

### Correspondencia / Correspondence:

Sheyla Mara de Almeida Ribeiro

Rua Augusto Corrêa, 01. Bairro: Guamá. CEP: 66075-110 – Belém, Pará, Brasil – Tel.: +55 (91) 98137-6900 / 3201-8214

E-mail: sheylaribeiro@hotmail.com / smribeiro@ufpa.br



<http://revista.iec.gov.br>

Rev Pan Amaz Saude 2019;10:e201900037 – e-ISSN: 2176-6223



## INTRODUCCIÓN

La interacción entre un hongo, o micobionte, y un alga o cianobacteria, o fotobionte, resulta en una relación simbiótica conocida como hongo liquenizado o liquen. El micobionte desempeña un papel importante en la asociación, ya que le confiere protección al fotobionte, además de definir el nombre científico y la morfología del tallo liquénico, clasificado como crostoso (fijado firmemente en el sustrato), foliáceo (fijado parcialmente en el sustrato) o fruticuloso (fijado puntualmente en el sustrato). El fotobionte influye en la morfología y dispone alimento para el hongo<sup>1</sup>.

Los líquenes se han usado en medicina popular desde la antigüedad (1700 a 1600 a. C.)<sup>2</sup>; sin embargo, el primer estudio con sustancias liquénicas fue realizado por Zopf<sup>3</sup>, en 1907, en el que describió alrededor de 150 sustancias. Los estudios sobre la acción biológica de estas sustancias comenzaron a realizarse después del descubrimiento de que eran específicas de los líquenes y de su uso en la medicina popular<sup>2,4</sup>.

Entre las propiedades más conocidas se encuentra la acción antimicrobiana, que se ha estudiado desde 1944<sup>5</sup>, como la de los ácidos úsnico y norestíctico, que tienen un poder inhibidor contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, hongos y parásitos<sup>6,7,8</sup>.

Teniendo en cuenta que los estudios sobre líquenes que se producen en la Región Amazónica pueden contribuir al descubrimiento de sustancias que inhiben el crecimiento de hongos y bacterias de importancia médica, y para aumentar el conocimiento sobre ellos, se decidió evaluar las especies existentes en el campus de Belém de la Universidad Federal de Pará (UFPA), por la disponibilidad de especies liquénicas aún no estudiadas y por ser un área de fácil acceso.

El campus de la UFPA, ubicado en la ciudad de Belém, estado de Pará, Brasil, tiene un área de 3,328,655.80 m<sup>2</sup>, donde se puede encontrar una variedad de hongos liquenizados, debido a la gran disponibilidad de especies de plantas cuyos troncos son sustratos importantes para el crecimiento de diferentes especies liquénicas, principalmente aquellas con tallo costoso. Aunque son más frecuentes, se seleccionaron para el estudio las especies de tallo foliáceo del género *Leptogium* y *Parmotrema*, ya que son destacables del sustrato, evitando su interferencia durante la extracción de sustancias. Ya se han reportado especies de *Leptogium* y *Parmotrema* en varias localidades de Brasil, pero no se han encontrado registros en Pará. Así, este estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de estos líquenes para producir compuestos con actividad inhibitoria contra bacterias y hongos causadores de infecciones humanas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MATERIAL LIQUÉNICO

Los hongos liquenizados *Parmotrema* sp. y *Leptogium* sp. se recolectaron en el campus Belém de la UFPA, acondicionados en bolsas de papel debidamente identificados y llevados al Laboratorio de Botánica, del Instituto de Ciencias Biológicas (ICB) de la UFPA, para secado y limpieza del material<sup>9</sup>. Parte de ese material

(10 g) se utilizó para la identificación taxonómica y el restante (10 g) sometido a extracción orgánica.

### OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

Los extractos orgánicos se obtuvieron a partir de las dos especies de hongos liquenizados, por sistema de agotamiento a frío, siguiendo la serie eluotrópica cloroformo y acetona. El tallo liquénico seco (10 g) de cada especie fue triturado en mortero y extraído con 100 mL de cloroformo, y mantenido en reposo por 24 h a 6 °C. Luego de ese período, el material se filtró y el residuo extraído con el mismo volumen de acetona en las mismas condiciones. Los extractos obtenidos se mantuvieron a temperatura ambiente (29 ± 3 °C) hasta la total evaporación de los solventes.

### MICROORGANISMOS DE PRUEBA

Para las pruebas de actividad antibacteriana, se utilizaron: cepas de referencia obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC) – *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 29665); cepas de referencia del Departamento de Antibióticos de la Universidad Federal de Pernambuco (UFPEDA) – *Bacillus subtilis* (UFPEDA 16) y *Mycobacterium phlei* (UFPEDA 71); y aislados clínicos de *P. aeruginosa* multirresistente y *S. aureus* resistente a la Meticilina (MRSA). Para las pruebas antifúngicas, se utilizaron: aislados clínicos de los dermatofitos *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum*; y un aislado ambiental de *M. gypseum*. Como representantes de hongos levaduriformes, se probaron 10 aislados clínicos de *Candida albicans* y dos aislados ambientales de *Cryptococcus*: *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*.

### PRUEBA ANTIMICROBIANA DE DISCO DIFUSIÓN EN AGAR

La actividad antimicrobiana de los extractos se evaluó utilizando el método de difusión en agar<sup>10</sup>. Se impregnaron discos de papel de 6 mm de diámetro con 20 µl de cada extracto liquénico solubilizado en dimetilsulfóxido (DMSO), a una concentración de 4 mg/ml, y se depositaron en placas de Petri que contenían el medio de Agar Müller-Hinton, previamente inoculadas con bacterias y Agar Sabouraud, inoculado con hongos. Las inoculaciones con turbidez compatible con el grado 0.5 de la escala McFarland se sembraron en la superficie del medio de cultivo con la ayuda de un hisopo. Como control negativo, se utilizaron discos impregnados con DMSO. Como control positivo, se utilizaron antibióticos Cefalotina y Amikacina para bacterias y Anfotericina B para hongos. Los experimentos se incubaron a 30 °C y 36 °C para hongos y bacterias, respectivamente. Los resultados se obtuvieron midiendo los halos de inhibición alrededor de los discos, después de 24 h de crecimiento para bacterias y levaduras y 72 h para dermatofitos.

### CROMATOGRAFÍA EN CAMADA DELGADA (CCD)

Los extractos liquénicos fueron solubilizados en acetona, en la concentración de 4 mg/mL, y aplicados en placas

de sílica Gel 60 F<sub>254+366</sub> (Merck, Darmstadt, Alemania), en un volumen de 10 µL. Las placas se sometieron a elución, utilizando como eluente el sistema de solvente A (tolueno/acetona/ácido acético 180:45:5 v/v/v) con adaptaciones<sup>11</sup>. Las bandas obtenidas se visualizaron bajo luz ultravioleta, en los largos de onda 254 nm y 366 nm, por medio de un lector de cromatoplacas (CAMAG TLC Visualizer, CAMAG, Muttenz, Suiza), y comparadas usando valores de Rf (factor de retención de cada sustancia en la placa cromatográfica, lo que se calcula por la razón entre la distancia recorrida por la banda y la distancia recorrida por el sistema de solventes, multiplicado por 100) y tinción con los patrones de los ácidos girofórico, divaricático, roccélico, leprolomina e isovicanicina aplicados como referencia.

#### BIOAUTOGRAFÍA POR INMERSIÓN O SOBREPOSICIÓN DE AGAR

Los extractos liquenizados fueron sometidos a ensayos bioautográficos<sup>12</sup> para detección de los compuestos activos de los extractos cromatografiados. Los extractos

con más acción antimicrobiana en las pruebas de disco difusión en agar se aplicaron en placas de sílica gel en las mismas condiciones de la CCD, las cuales se depositaron en placas de Petri y, sobre ellas, el medio de cultivo agar Mueller-Hinton inoculado con el microorganismo más sensible en las pruebas de difusión en agar.

#### RESULTADOS

Los extractos de las dos especies de hongos liquenizados evaluadas en este estudio inhibieron el crecimiento de la mayoría de las bacterias probadas, siendo los de *Parmotrema* sp. los más eficaces, principalmente el extracto clorofórmico, que inhibió el crecimiento de 62,5% de las bacterias analizadas con halos de inhibición que variaron de 8 a 12 mm, mientras que el extracto acetónico fue activo frente a 37,5% de las mismas. Aunque el extracto clorofórmico de *Leptogium* sp. también haya inhibido el mismo porcentaje de bacterias (62,5%), los halos de inhibición no sobrepasaron el diámetro de 8 mm (Tabla 1).

**Tabla 1** – Actividad antimicrobiana de extractos obtenidos a partir de líquenes presentes en el campus Belém de la Universidad Federal de Pará

Microorganismos	Diámetro de los halos de inhibición (mm)					
	<i>Leptogium</i> sp.		<i>Parmotrema</i> sp.		DMSO	CFL
	ECI	EAc	ECI	EAc		
<b>Bacterias</b>						
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	8	–	–	–	–	11
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	–	–	8	11	–	30
<i>Bacillus subtilis</i> (UFPEDA 16)	–	–	12	–	–	41
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	8	8	11	–	–	41
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	8	14	–	–	–	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (multirresistente)	–	–	–	–	–	12
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 29665)	8	–	12	11	–	41
<i>Mycobacterium phlei</i> (UFPEDA 71)	8	8	11	10	–	30*
<b>Hongos</b>						AFB
<i>Trichophyton tonsurans</i>	–	–	12	15	–	14
<i>Trichophyton rubrum</i>	–	–	–	–	–	18
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	–	–	8	8	–	14
<i>Microsporum gypseum</i> (clínico)	10	–	15	9	–	9
<i>Microsporum gypseum</i> (ambiental)	10	–	10	10	–	10
<i>Microsporum canis</i>	–	–	9	–	–	15
<i>Epidermophyton floccosum</i>	–	–	–	21	–	40

ECI: Extracto clorofórmico; EAc: Extracto acetónico; DMSO: Dimetilsulfóxido; CFL: Cefalotina; \* Amikacina; AFB: Anfotericina B. Señal convencional utilizada: – Dato numérico igual a cero, no resultante de redondeo.

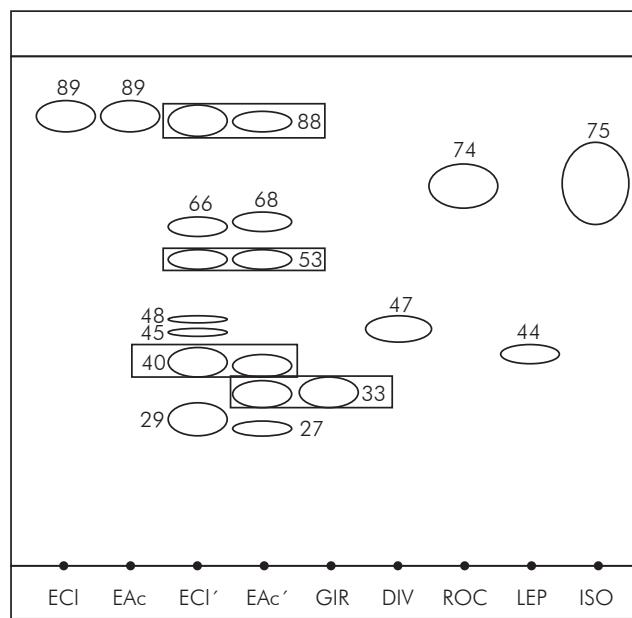
Entre las bacterias probadas, las cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *M. phlei* presentaron más sensibilidad, una vez que fueron inhibidas por las dos especies de líquenes, con destaque para *M. phlei*, que fue sensible a 100% de los extractos líquénicos evaluados. Por otra parte, el aislado clínico multirresistente de *P. aeruginosa* presentó resistencia a todos los extractos probados, confirmando la dificultad de controlar el crecimiento de esa cepa bacteriana. En contrapartida, la cepa ATCC de *P. aeruginosa* presentó sensibilidad al extracto acetónico de *Leptogium* sp. semejante a la presentada al antibiótico utilizado como referencia (Tabla 1).

En relación a la actividad antifúngica, los extractos de *Parmotrema* sp. también fueron más prometedores, ya que inhibieron 85,7% de los dermatofitos probados; los más sensibles fueron *T. tonsurans* y *M. gypseum* de origen clínica, presentando halos de inhibición de hasta 15 mm de diámetro para el extracto clorofórmico, y *E. floccosum*, con halos de hasta 21 mm para el extracto acetónico (Tabla 1).

Por otro lado, los extractos de *Leptogium* sp. inhibieron solamente las cepas de *M. gypseum* de origen clínica y ambiental, con halos de 10 mm de diámetro. Vale destacar que algunos extractos presentaron acción superior a la del antifúngico comercial utilizado como referencia, como el extracto acetónico de *Parmotrema* sp. frente al *T. tonsurans*, y el extracto clorofórmico de la misma especie de liquen frente al *M. gypseum* de origen clínica. Las pruebas realizadas con levaduras demostraron 100% de resistencia de ese grupo a los extractos de ambas especies de líquenes.

El análisis químico por CCD reveló la presencia de tan solo una banda en ambos extractos de *Leptogium* sp., con *Rf* 89. En relación al *Parmotrema* sp., se observaron siete bandas para el extracto clorofórmico, con valores de *Rf* 88, 66, 53, 48, 45, 40 y 29, y seis

en el extracto acetónico, con valores de *Rf* 88, 68, 53, 40, 33 y 27 (Figura 1). Se notó que las bandas con *Rf* 88, 53 y 40 están presentes en ambos extractos de *Parmotrema* sp., además de presentar el mismo valor de *Rf*, tienen también la misma reacción de coloración. Lo mismo sucedió con la banda de *Rf* 33 en el extracto acetónico de esa especie que correspondió al mismo *Rf* y reacción de coloración del ácido girofórico, sugiriendo la producción de esa sustancia por *Parmotrema* sp. (Tabla 2).



ECI: Extracto clorofórmico de *Leptogium* sp.; EAc: Extracto acetónico de *Leptogium* sp.; ECI': Extracto clorofórmico de *Parmotrema* sp.; EAc': Extracto acetónico de *Parmotrema* sp.; GIR: Ácidos girofórico; DIV: Divaricátilo; ROC: Roccélico; LEP: Leprolomina; ISO: Isovicanicina.

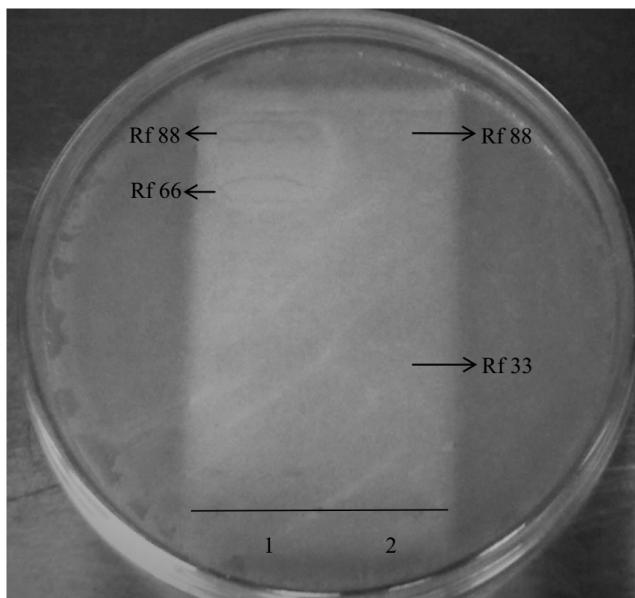
**Figura 1** – CCD desarrollada en el sistema de solventes (tolueno/acetona/ácido acético 180:45:4 v/v/v)

**Tabla 2** – Valores de *Rf* y coloración de las bandas visualizadas por CCD, a 254 nm y 366 nm, en los extractos de *Leptogium* sp. y *Parmotrema* sp. y en el punto correspondiente al ácido girofórico

<i>Rf</i>	<i>Leptogium</i> sp.			<i>Parmotrema</i> sp.		Ácido girofórico 254/366
	Extracto clorofórmico 254/366	Extracto acetónico 254/366	Extracto clorofórmico 254/366	Extracto acetónico 254/366	Extracto acetónico 254/366	
89	Gris-claro/Rojo	Gris-claro/Rojo	–	–	–	–
88	–	–	Gris/Rojo-oscuro	Gris/Rojo-oscuro	–	–
68	–	–	–	Gris-claro/NV	–	–
66	–	–	Gris/NV	–	–	–
53	–	–	Gris/NV	Gris/NV	–	–
48	–	–	Gris/Amarillo-claro	–	–	–
45	–	–	Gris/Amarillo-claro	–	–	–
40	–	–	Gris/Marrón	Gris/Marrón	–	–
33	–	–	–	Gris-oscuro/Azul-claro	Gris-oscuro/Azul-claro	–
29	–	–	Gris-claro/Marrón-claro	–	–	–
27	–	–	–	Gris/NV	–	–

*Rf*: Factor de retención; -: Ausente; NV: No visualizado.

El ensayo bioautográfico se realizó con los extractos de *Parmotrema* sp., por tener mayor efecto inhibitorio contra los microorganismos probados, siendo *M. phlei* la especie bacteriana seleccionada por mostrarse más sensible en las pruebas de disco difusión en agar. La bioautografía demostró que las bandas con Rf 88 e 66, presentes en el extracto clorofórmico, son las responsables por la acción antibacteriana de ese extracto, actuando sinérgicamente en el control del crecimiento de *M. phlei*, visto que hubo formación de halo de inhibición abarcando esas dos bandas cromatográficas (Figura 2).



Rf: Factor de retención; 1: Extracto clorofórmico de *Parmotrema* sp.; 2: Extracto acetónico de *Parmotrema* sp.

**Figura 2** – Bioautografía por sobreposición de agar evidenciando la sinergía de las bandas con Rf 88 y 66 en la inhibición del crecimiento de *M. phlei*

## DISCUSIÓN

Los estudios sobre la actividad antimicrobiana de las sustancias liquénicas generalmente reportan la mayor sensibilidad de las bacterias Gram positivas a los extractos de diferentes especies de hongos liquenizados<sup>13,14,15,16,17</sup>. Concomitante a esto, algunos autores han informado de la ineeficacia de estas sustancias contra las cepas de bacterias Gram negativas<sup>18,19</sup>. Sin embargo, en este trabajo, las cepas Gram positivas estándar de *S. aureus* y *B. subtilis* fueron inhibidas por solamente el 25% de los extractos evaluados, mientras que las cepas Gram negativas *E. coli* y *K. pneumoniae* fueron sensibles al 75% de los extractos y *P. aeruginosa* (ATCC 9027) al 50% de estos extractos, mostrando una mayor sensibilidad de las bacterias Gram negativas a los extractos liquénicos evaluados aquí. Estos datos están de acuerdo con los de Mie et al.<sup>20</sup>, quienes también encontraron una mayor sensibilidad de las bacterias Gram negativas a los extractos de *Parmotrema praesorediosum*. Estas diferencias pueden ocurrir debido a varios factores, entre ellos: los solventes utilizados en la extracción, las especies liquénicas estudiadas, los factores extrínsecos e intrínsecos que interfieren en el metabolismo del

lichen, como la edad del tallo, los factores genéticos, la humedad, la luminosidad y los tipos de metabolitos secundarios, producidos<sup>16,21</sup>.

En cualquier caso, la acción de los extractos de *Parmotrema* sp. contra *S. aureus* (MRSA), una bacteria multirresistente a múltiples fármacos, presente en una variedad de procesos infecciosos hospitalarios, difíciles de controlar, lo que torna importante la sensibilidad de esta bacteria a los extractos de *Parmotrema* sp. utilizados en este estudio. Muestras clínicas de *S. aureus* multirresistente a múltiples fármacos ya han sido citadas en otros estudios como sensibles a los extractos de *Parmotrema* recolectados en otros lugares<sup>22,23</sup>.

Otro dato a destacar es la sensibilidad de la cepa ATCC de *P. aeruginosa* al extracto de acetona de *Leptogium* sp. similar a la acción del antibiótico utilizado como referencia, ya que es una bacteria oportuna, considerada uno de los mayores problemas en la clínica médica debido a su gran capacidad para adquirir resistencia a los antibióticos comercializados. Por lo tanto, a pesar de la baja acción de los extractos de *Leptogium* sp., es importante invertir en la identificación de la sustancia capaz de inhibir la cepa ATCC de *P. aeruginosa*.

La sensibilidad de *M. phlei* a 100% de los extractos probados en este trabajo también es de gran importancia, ya que es una bacteria ácido-alcohol resistente que pertenece a un género de gran interés médico, que abarca agentes etiológicos de enfermedades como la lepra y la tuberculosis, que se han relacionado, frecuentemente, con casos de resistencia a los antibióticos<sup>24</sup>.

Teniendo en cuenta que es vital la búsqueda de nuevas drogas que sean efectivas contra patógenos multirresistentes, los líquenes pueden servir como modelo para el desarrollo de nuevas terapias contra los casos actuales de enfermedades causadas por estas bacterias.

Con respecto a la actividad antifúngica, algunos estudios han reportado la sensibilidad de *T. tonsurans*, *M. gypseum* y *E. floccosum* a extractos liquénicos de diferentes especies<sup>6,25</sup>, así como la demostrada en el presente estudio. En contraste, ninguna levadura era sensible a los extractos analizados. Tal resistencia es un hecho conocido, ya que algunos estudios han demostrado la resistencia de las levaduras a extractos de varias especies de líquenes<sup>6,26</sup>. Kambar et al.<sup>27</sup>, por ejemplo, encontraron resistencia de *C. albicans* a extractos metanólicos de dos especies liquénicas hasta una concentración de 20 mg/ml, resultados también encontrados en esta investigación, confirmando la resistencia de hongos levaduriformes a extractos liquénicos.

Los extractos de *Parmotrema* sp. mostraron una mayor capacidad inhibitoria en las pruebas en disco y un mayor número de bandas en las pruebas cromatográficas, siendo el extracto de cloroformo el más activo y el que tenía el mayor número de bandas en relación al extracto acetónico de la misma especie y en detrimento de los extractos de *Leptogium* sp. La bioautografía ha demostrado que la banda 66, presente en el extracto clorofórmico de *Parmotrema* sp., confiere un mayor potencial antimicrobiano a este extracto,

ya que actúa sinérgicamente con la banda 88 en la inhibición del crecimiento microbiano. Estas pruebas también permitieron identificar el ácido girofórico en el extracto acetónico de *Parmotrema* sp. Ya se han citado varias sustancias para el género, como la atranorina, la norlobaridona y el ácido úsnico<sup>23,28</sup>; sin embargo, esta es la primera referencia de ácido girofórico para especies del género *Parmotrema*, que no mostró acción antimicrobiana, como se observa en la bioautografía. A pesar de los informes sobre la acción antimicrobiana del ácido girofórico<sup>18,29</sup>, es probable que su concentración en el extracto de acetona de la muestra de *Parmotrema* sp. evaluado aquí, esté por debajo del mínimo necesario para producir inhibición microbiana.

Los datos bioautográficos justificaron el mayor potencial inhibitorio del extracto clorofórmico de *Parmotrema* sp. cuando se muestra la acción sinérgica de sustancias con Rf 88 y 66. Aunque la banda 88 también esté presente en el extracto de acetona confiriéndole acción antimicrobiana, su menor concentración en este extracto es evidente, como se observa por el tamaño de la banda cromatográfica correspondiente (Figura 1). Este hecho, asociado con la ausencia de la banda 66, justifica el menor potencial inhibitorio del extracto de acetona de *Parmotrema* sp. El extracto clorofórmico de este liquen, por lo tanto, presentó un mayor potencial inhibitorio porque contiene una asociación de dos sustancias que actúan sinérgicamente inhibiendo el crecimiento microbiano.

Estos datos muestran que el campus Belém de la UFPA tiene especies liquénicas con potencial antimicrobiano y que puede tornarse una fuente de sustancias antibióticas para la población, frecuentemente afectada por infecciones fúngicas y bacterianas.

## CONCLUSIÓN

Los resultados mostraron el potencial antimicrobiano de líquenes presentes en el campus Belém de la UFPA, una vez que produjeron sustancias capaces de inhibir

el crecimiento de bacterias y hongos causadores de infecciones humanas, destacándose los extractos de *Parmotrema* sp., que mostraron mayor potencial inhibitorio tanto en las pruebas antibacterianas como en las antifúngicas.

Los datos obtenidos sirven de base para estudios futuros sobre la identificación de los principios activos detectados, bien como para subsidiar estudios sobre la toxicidad de esas sustancias, los cuales son necesarios para hacer viable el uso clínico de sustancias liquénicas.

## AGRADECIMIENTOS

A los técnicos Hélio Plautz, Maria Joaquina Ferreira y Orlando Silva, del Laboratorio de Microbiología, y Domingos Claudino, del Laboratorio de Micología, ambos del Instituto de Ciencias Biológicas de la UFPA, por el apoyo concedido en la preparación de los materiales utilizados.

## APOYO FINANCIERO

Fundación Amazonía de Amparo a Estudios e Investigaciones de Pará.

## CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran que no hay conflictos de interés en relación a este trabajo.

## CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

El autor Victor Hugo de Carvalho Vieira participó de todas las etapas de desarrollo del trabajo siendo acompañado por la autora Sheyla Mara de Almeida Ribeiro desde las pruebas iniciales hasta la elaboración del manuscrito. Los demás autores contribuyeron con la redacción del manuscrito y con la identificación de los géneros de hongos liquenizados (Rosildo Santos Paiva), realización de pruebas cromatográficas (Wandson Braamcamp de Souza Pinheiro), pruebas antibacterianas (Antônia Benedita Rodrigues Vieira) y antifúngicas (Solange do Perpétuo Socorro Evangelista Costa).

## REFERENCIAS

- 1 Nash III TH, editor. Lichen biology. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2008. p. 1-8.
- 2 Abrahan EP, Florey HW. Antimicrobial substances from lichens and algae. In: Florey HW, Chain E. Antibiotics: a survey of penicillin, streptomycin, and other antimicrobial substances from fungi, actinomycetes, bacteria, and plants. Vol. 1. London: Oxford University Press; 1949. p. 566-75.
- 3 Zopf W. Die Flechtenstoffe in chemischer, botanischer, pharmakologischer und technischer Beziehung. Jena: Verlag von Gustav Fischer; 1907. 450 p. Alemão.
- 4 Molnár K, Farkas E. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. Z Naturforsch C. 2010 Mar-Apr;65(3-4):157-73.
- 5 Burkholder PR, Evans AW, Mcveigh I, Thornton HK. Antibiotic activity of lichens. Proc Natl Acad Sci USA. 1944 Sep;30(9):250-5.
- 6 Ribeiro SM, Pereira EC, Gusmão NB, Falcão EP, Silva NH. Produção de metabólitos bioativos pelo líquen *Cladonia substellata* (Vainio). Acta Bot Bras. 2006 jun-abr;20(2):265-72.
- 7 Nóbrega NA, Ribeiro SM, Pereira EC, Marcelli M, Martins MCB, Falcão EPS, et al. 2012. Produção de compostos fenólicos a partir de células imobilizadas do líquen *Parmotrema andinum* (Müll. Arg.) Hale e avaliação de atividade antimicrobiana. Acta Bot Bras. 2012 jan-mar;26(1):101-7.
- 8 Fritis MC, Lagos CR, Sobarzo NQ, Venegas IM, Sánchez CS, Altamirano HC, et al. Depsides and triterpenes in *Pseudocyphellaria coriifolia* (lichens) and biological activity against *Trypanosoma cruzi*. Nat Prod Res. 2013;27(17):1607-10.



- 9 Falcão EPS, Silva NH, Gusmão NB, Ribeiro SM, Honda NK, Pereira EC. Atividade antimicrobiana de compostos fenólicos do líquen *Heterodermia leucomela* (L.) Poelt. *Acta Farm Bonaerense*. 2002;21(1):43-9.
- 10 Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966 Apr;45(4):493-6.
- 11 Culberson CF. Improved conditions and new data for identification of lichen products by standardized thin-layer chromatographic method. *J Chromatogr*. 1972;72(1):113-25.
- 12 Homans AL, Fuchs A. Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. *J Chromatogr*. 1970 Sep;51(2):327-9.
- 13 Srivastava P, Logesh AR, Upreti DK, Dhole TN, Srivastava A. *In-vitro* evaluation of some Indian lichens against human pathogenic bacteria. *Mycosphere*. 2013 Aug;4(4):734-43.
- 14 Ramos DBM, Gomes FS, Napoleão TH, Paiva PMG, Silva MDC, Coelho LCBB. Antimicrobial activity of *Cladonia verticillaris* lichen preparations on bacteria and fungi of medical importance. *Chin J Biol*. 2014 Jan;2014.
- 15 Sarıözlü NY, Cankılıç MY, Candan M, Turgay T. Antimicrobial activity of lichen *Bryoria capillaris* and its compound barbatolic acid. *Biomed Res*. 2016;S419-23.
- 16 Kemegne GA, Mkounga P, Ngang JJE, Kamdem SLS, Nkengfack AE. Antimicrobial structure activity relationship of five anthraquinones of emodine type isolated from *Vismia laurentii*. *BMC Microbiol*. 2017 Feb;17:41.
- 17 Moura JB, Vargas AC, Gouveia GV, Gouveia JJS, Ramos-Junior JC, Botton SA, et al. *In vitro* antimicrobial activity of the organic extract of *Cladonia substellata* Vainio and usnic acid against *Staphylococcus* spp. obtained from cats and dogs. *Pesq Vet Bras*. 2017 Apr;37(4):368-78.
- 18 Candan M, Yılmaz M, Tay T, Kivanç M, Türk H. Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyi* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents. *Z Naturforsch C*. 2006 May-Jun;61(5-6):319-23.
- 19 Balaji P, Hariharan GN. *In vitro* antimicrobial activity of *Parmotrema praesorediosum* thallus extracts. *Res J Bot*. 2007;2(1):54-9.
- 20 Mie R, Samsudin MW, Din L, Ahmad A, Ibrahim N, Adnan S. Synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity using the lichen *Parmotrema praesorediosum*. *Int J Nanomedicine*. 2014;9(1):121-7.
- 21 Shrestha G, Raphael J, Leavitt SD, St Clair LL. *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of extracts from 34 species of North American lichens. *Pharm Biol*. 2014 Oct;52(10):1262-6.
- 22 Chauhan R, Abraham J. *In vitro* antimicrobial potential of the lichen *Parmotrema* sp. extracts against various pathogens. *Iran J Basic Med Sci*. 2013 Jul;16(7):882-5.
- 23 Honda NK, Freitas DS, Micheletti AC, Carvalho NCP, Spielmann AA, Canêz LS. *Parmotrema screminiae* (Parmeliaceae), a novel lichen species from Brazil with potent antimicrobial activity. *Orbital: Electron J Chem*. 2016 Oct-Dec;8(6):334-40.
- 24 Koul A, Vranckx L, Dendouga N, Balemans W, Van den Wyngaert I, Vergauwen K, et al. Diarylquinolines are bactericidal for dormant mycobacteria as a result of disturbed ATP homeostasis. *J Biol Chem*. 2008 Sep;283(37):25273-80.
- 25 Schmeda-Hirschmann G, Tapia A, Lima B, Pertino M, Sortino M, Zacchino S, et al. A new antifungal and antiprotozoal depside from the andean lichen *Protousnea poeppigii*. *Phytother Res*. 2008 Mar;22(3):349-55.
- 26 Vieira VHC, Souza IP, Paiva RS, Costa SPSE, Ribeiro SMA. Ação antimicrobiana de extratos líquenicos: uma alternativa para uso sustentável da biodiversidade amazônica. In: 3º Simpósio de Estudos e Pesquisas em Ciências Ambientais na Amazônia; 2014 nov 18-20; Belém, PA. Belém: Editora da UEPA; 2014. p. 132-9.
- 27 Kambar Y, Vivek MN, Manasa M, Vinayaka KS, Mallikarjun N, Prashith Kekuda TR. Antimicrobial activity of *Leptogium burnetiae*, *Ramalina hossei*, *Roccella montagnei* and *Heterodermia diademata*. *Int J Pharm Phytopharmacol Res*. 2014 Jan;4(3):164-8.
- 28 Jain AP, Bhandarkar S, Rai G, Yadav AK, Lodhi S. Evaluation of *Parmotrema reticulatum* Taylor for antibacterial and antiinflammatory activities. *Indian J Pharm Sci*. 2016;78(1):94-102.
- 29 Ranković B, Mišić M, Sukdolak S. The antimicrobial activity of substances derived from the lichens *Physcia aipolia*, *Umbilicaria polyphylla*, *Parmelia caperata* and *Hypogymnia physodes*. *World J Microbiol Biotechnol*. 2008 Jul;24(7):1239-42.

Recibido en / Received: 10/4/2018  
Aceptado en / Accepted: 12/11/2018

Se refiere al doi: 10.5123/S2176-6223201900037, publicado originalmente en portugués.

**Traducido por:** Lota Moncada

Cómo citar este artículo / How to cite this article:

Vieira VHC, Vieira ABR, Pinheiro WBSP, Costa SPSE, Paiva RS, Ribeiro SMA. Actividad antimicrobiana de líquenes en el campus Belém de la Universidad Federal de Pará, estado de Pará, Brasil. *Rev Pan Amaz Saude*. 2019;10:e201900037. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-6223201900037>.