



# IDENTIFICACION MOLECULAR PARA EL CONTROL DE CALIDAD DEL LIQUEN DE ISLANDIA

Autor: María Briñón González  
Tutor: Pradeep K. Divakar

**Cetraria islandica** o **Liquen de Islandia** es una especie de liquen usado tradicionalmente en afecciones respiratorias y digestivas y del que se están estudiando sus actividades antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria y anticancerígena<sup>1</sup>. Es muy fácil que se den **adulteraciones o falsificaciones** en los productos vendidos en herbolarios de España de esta especie, pues se realiza su **venta libre** en forma de extracto, infusiones o plantas desecadas, y solo se encuentra en los sistemas montañosos de Norte y Centro de la península, y no de forma abundante<sup>2</sup>. Se ha querido comprobar si existen o no falsificaciones o adulteraciones, para lo que se ha usado la técnica de identificación molecular **ADN barcoding** que ha demostrado mayor eficacia a la hora de clasificar e identificar líquenes.



Fig.1 Cetraria islandica (L.) Ach., Familia Parmeliaceae.

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

**Morfología:** talo de 2-10 cm de alto, fruticoso, erecto o decumbente, acanalados y ligeramente ramificados. Su cara superior es marrón rojizo o grisáceo. Tiene espínulas y pseudocifelas blanquecinas que aparecen en los márgenes.<sup>3</sup>  
**Composición:** ácidos fumarprotocetrárico, protocetrárico y ácido protoliqueterínico<sup>3</sup>.  
**Usos:**  
-Tradicionalmente: liquen más utilizado en medicina: tuberculosis o enfermedades respiratorias<sup>5</sup>, tónico o laxante<sup>6</sup>.  
-Alimento: en Europa para fabricar pan, chocolate o pasteles<sup>7</sup>(Fig.2-3).  
-Actualmente: se han realizado ensayos in vivo e in vitro que han probado su capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética y antioxidante<sup>1</sup>.

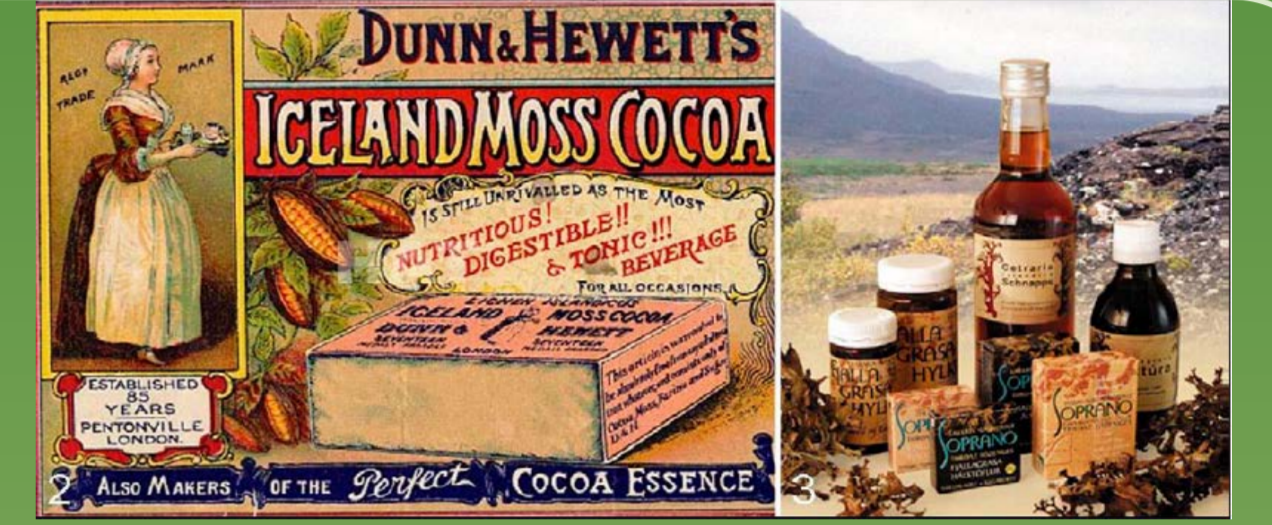


Fig.2-3 Etiqueta del chocolate fabricado con Cetraria islandica y Productos comercializados por la empresa islandesa Iceherbs Ltd. que llevan como ingrediente Cetraria islandica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTRAS

Botanicum (Fig.4-5) Herbes del Moli(Fig.5-6)



Fig.4-5 Bolsa de Botanicum.

Fig.5-6 Bolsa de Herbes del Moli.

5250,5251,5252, 5253 5254,5255

EXTRACCION:mini kit Dneasy Plant

PCR Y ELECTROFORESIS

PURIFICACIÓN

SECUENCIACIÓN: Programa SeqMan

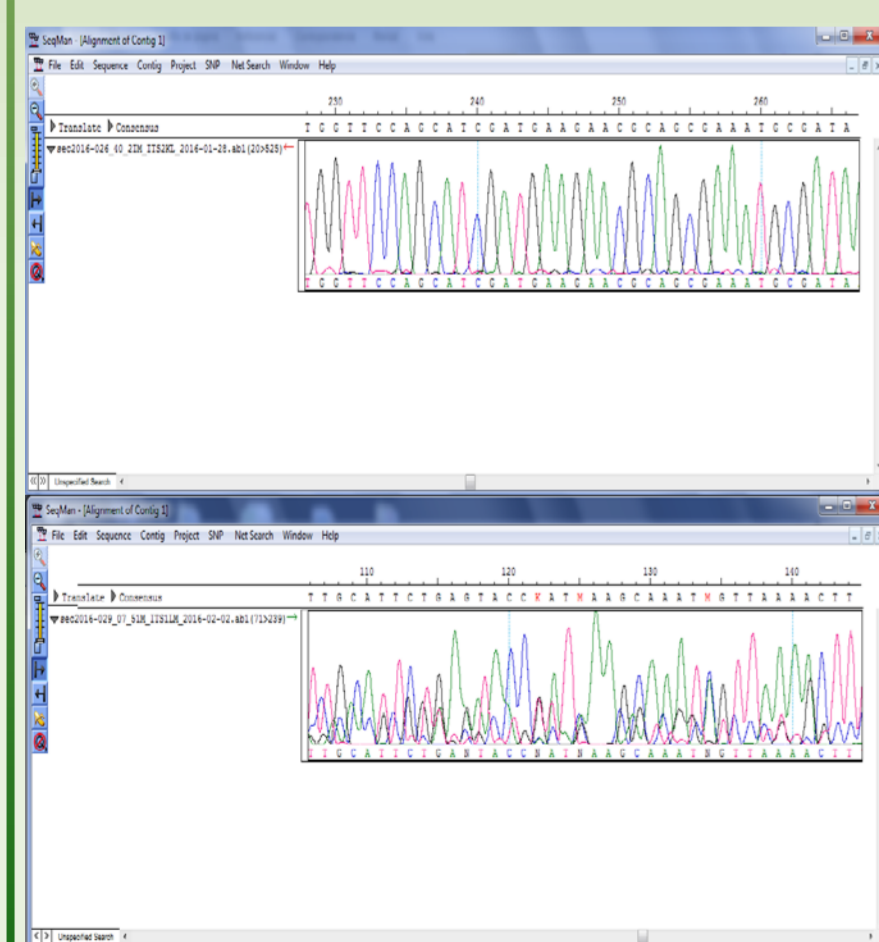


Fig.8-9 Secuenciaciones 52551 y 5252

Ejemplo de Cetraria islandica, muestra 5252, secuencia de muy buena calidad(Fig.8)

Ejemplo de Pseudevernia furfurácea, muestra 5251, secuencia de muy baja calidad (Fig.9)

## RESULTADOS

### Estudios morfológicos

**Botanicum:**

- 5250 y 5251: Ambas muestras se identificaron como **Pseudevernia furfuracea** por su color marrón y negro y tener isidios en su superficie. Es una especie muy común en España incluso se puede encontrar en parques en Comunidad de Madrid.
- 5252 y 5253: eran muestras de líquenes marrones-verdosos con pseudófilos y sorolios en los márgenes característico de **Cetraria islandica**. La 5252 era de un color marrón más oscuro que la 5253.

**Herbes del Moli:** Las dos muestras 5254 y 5255 consistían en los mismos líquenes verdes lobulados que fueron identificadas como **Cladonia foliacea**. También se detectó un aroma posiblemente de una labiada, no típico de un liquen.

### Estudio Molecular

En total de seis muestras extraídas cinco se amplificaron. Se encontraron dos muestras con productos de PCR en la primera (5252,5254 Fig. 10) y tres muestras en la segunda (5251, 5253,5255 Fig. 11) con el método PCR BEADS, mientras que el método PCR normal fracaso.

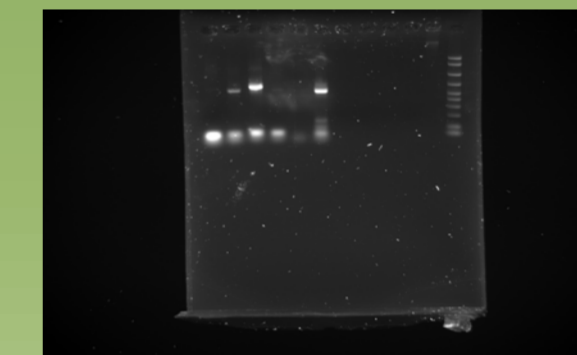


Fig.10 Muestras 5252,5254.

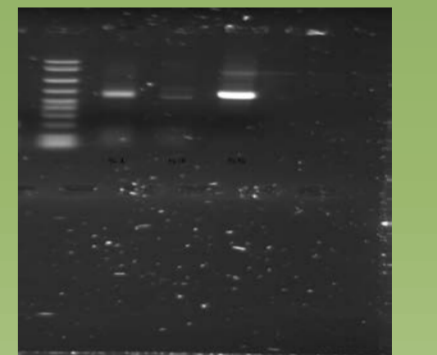


Fig.11 Muestras 5251,5253 ,5255.

### Identificación mediante BOLD System

5251: Los resultados que se obtuvieron en Bold system con una probabilidad del 90% y de 160 pares de bases, de las cuales muchas **no estaban identificadas**, no pueden ser considerados válidos para su identificación

5252: **Cetraria islandica** con un 99.6% de similaridad (Fig12-13).

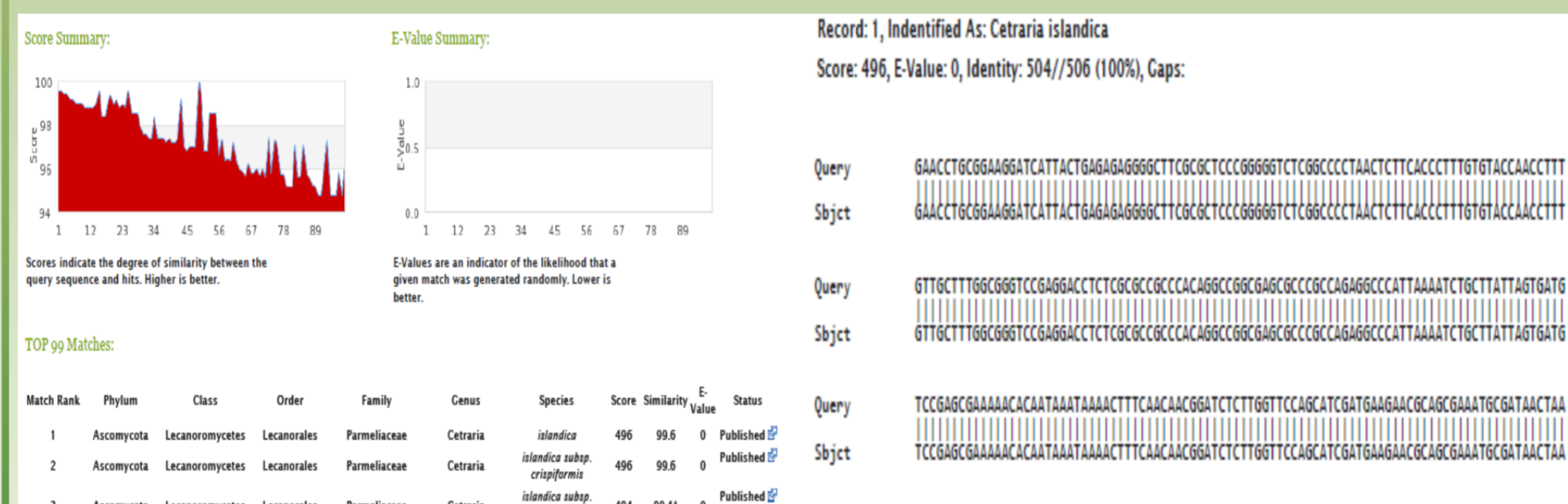


Fig.12 Resultados Bold system de la muestra 5252. Fig.13 Similaridad de pares de bases 5252.

5254: **Cladonia convoluta** con un 99,74 % de similaridad (Fig.16-17).

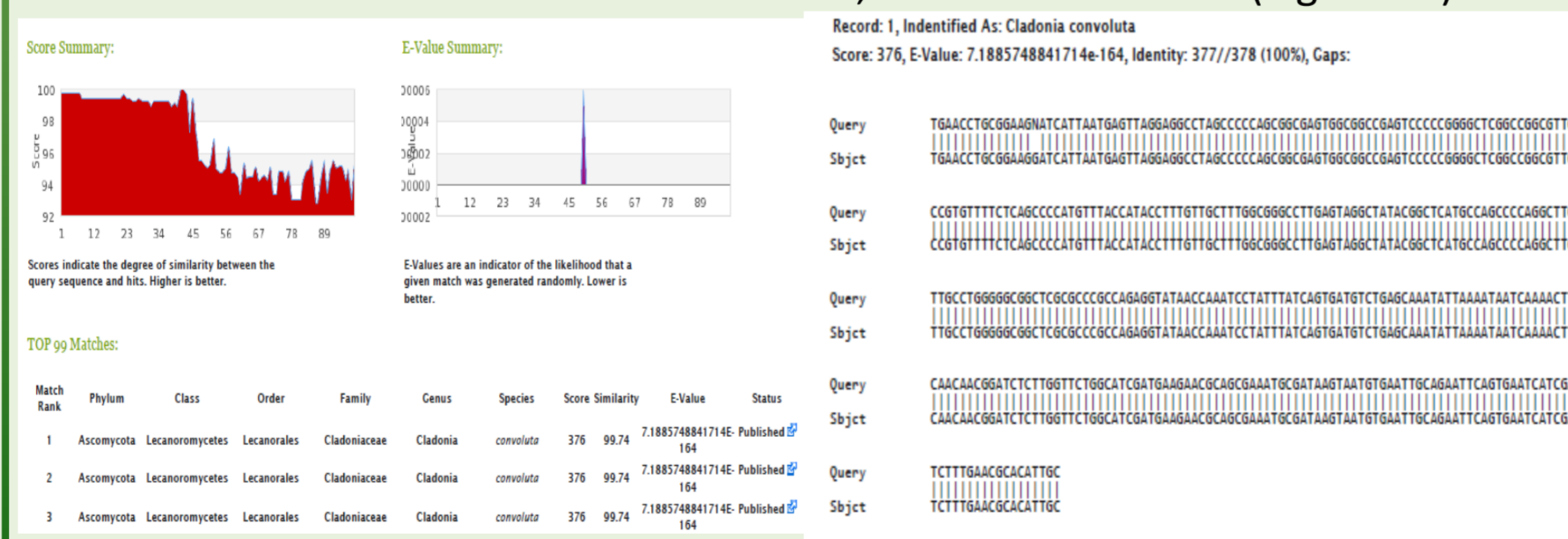


Fig.16 Resultados Bold system de la muestra 5254. Fig. 17 Similaridad de los pares de bases 5254.

5253: **Cetraria ericetorum** con un 96,63 % de similaridad (Fig.14-15).

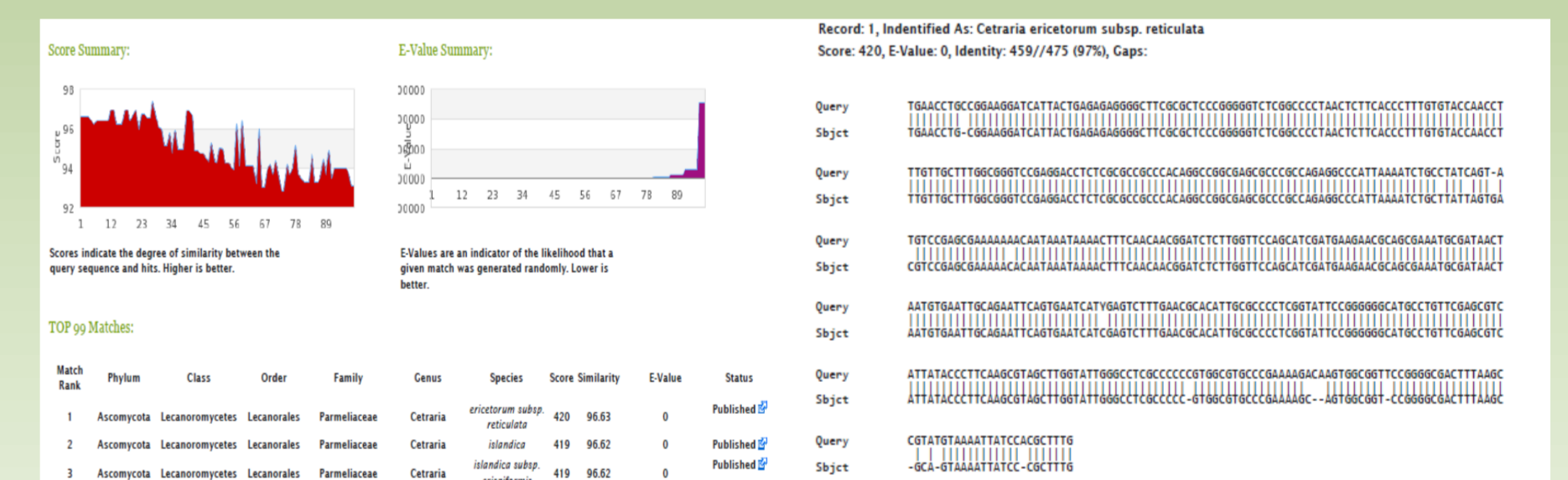


Fig.14 Resultados Bold system de la muestra 5253. Fig.15 Similaridad de pares de bases 5253.

5255: **Cladonia convoluta** con un 94,77% de similaridad (Fig.18-19).

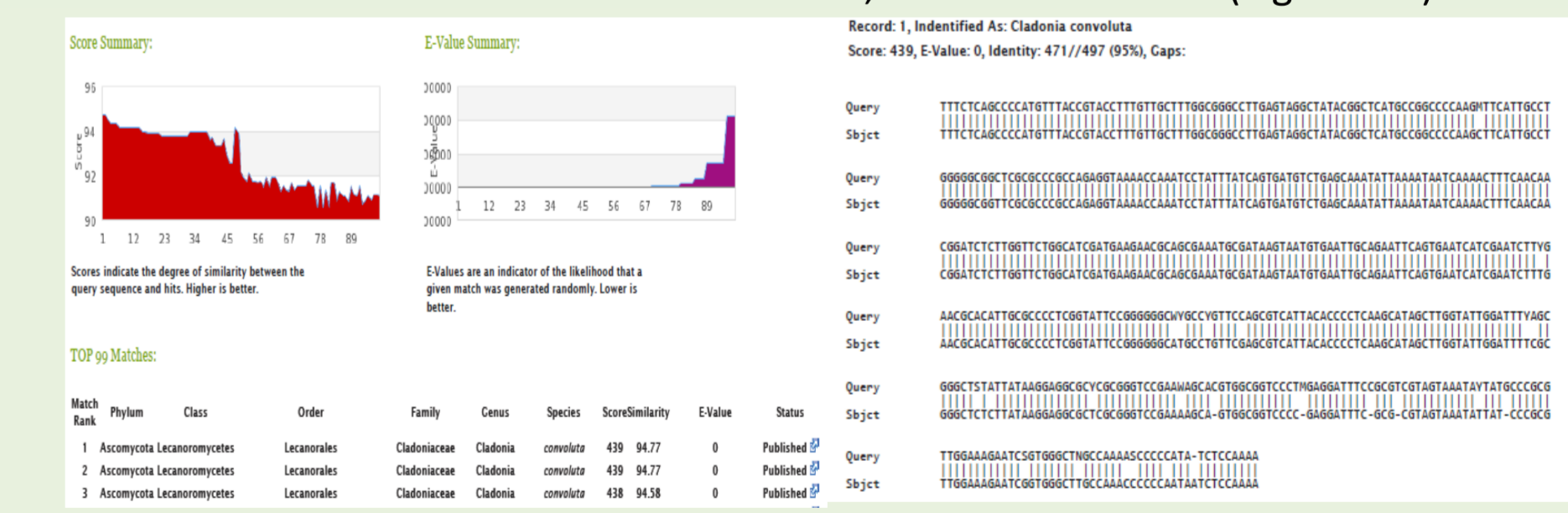


Fig.18 Resultados Bold system de la muestra 5255. Fig..19 Similaridad de pares de bases 5255.

## CONCLUSIÓN

Se han **detectado adulteraciones** en las muestras recogidas de dos marcas en dos herbolarios de la Comunidad de Madrid que decían ser Cetraria Islandica en ambos envoltorios:

- Botanicum: contenía tres especies Cetraria Islandica, Cetraria ericetorum y Pseudevernia Furfurácea.
- Herbes del Moli: contenía una especie solamente, Cladonia Convoluta.

Estas **identificaciones** han sido posibles gracias a la técnica de **ADN barcoding**, que ha demostrado ser más eficaz que la técnica morfológica, pues muestras que se creyeron que eran una especie tras la secuenciación se detectó que eran otras.

**Bibliografía:**  
1. M. P. Gomez, C. Fernandez, E. Gonzalez, P. K. Divakar, and A. Crespo, Parmeliaceae family: phytochemistry, pharmacological potential and phylogenetic features, The Royal Society of Chemistry, 2014, 3-23  
2. G. Renobales and J. Sallés, Plantas de interés farmacéutico, Cetraria islandica, 2001.  
3. E. Barreno and S. Perez-Ortega, Líquenes de la reserva natural integral de Muniellos, Asturias, KRK Ediciones, 2003, 147-240.  
4. S. Nayaka, D.K. Upretiand, R.Khare, Medicinal lichens of india. In Drugs from Plants (Ed. P.C. Trivedi), Avishkar Publishers, 2010, 6-8.  
5. V. Ahmadijjan, S. Nilsson, Swedish lichens. In Yearbook. American Swedish Historical Foundation, 1963  
6. J. Lindley, Medical and economical botany. Bradbury and Evans, London, 1849.  
7. G.A. Llano, Economic uses of lichens. Econ. Bot., 1948, 2, 15-45.