

Diversidad de bacterias no fotosintéticas y sus procesos metabólicos asociados a los líquenes

Martínez-Vargas Blanca Isabel¹, Pérez-y-Terrón Rocío^{1*} .

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio 112-A, Ciudad, Universitaria, Col. Jardines de San Manuel, C. P. 72570

*Email autor corresponsal: rocio.perez@correo.buap.mx

Recibido: 26 octubre 2020. **Aceptado:** 27 diciembre 2020

RESUMEN

Introducción: Los líquenes son asociaciones simbióticas mutualistas entre un hongo y una o más algas verdes o cianobacterias. Actualmente se han reportado interacciones entre los líquenes y bacterias no fotosintéticas, sin embargo, no se conoce a detalle cómo ocurren, y la diversidad y potencial de esta relación aún no han sido explorados completamente. Con el uso de nuevas herramientas moleculares y nuevos métodos de cultivo, fueron detallándose las funciones de las bacterias no fotosintéticas relacionadas con los líquenes y, por lo tanto, fue posible analizar su asociación simbiótica. Por ello, esta investigación tiene como objetivo analizar la diversidad de bacterias no fotosintéticas y los procesos metabólicos de éstas que permiten la supervivencia de los líquenes. **Metodología:** A partir de la búsqueda y análisis de trabajos recientes (2015-2020) se obtuvo información sobre los filos de bacterias no fotosintéticas presentes en líquenes y se analizaron los procesos metabólicos de estas bacterias en relación con la supervivencia de los líquenes en los que se encontraban. **Resultados:** Los filos bacterianos frecuentemente encontrados en líquenes son Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes Verrucomicrobia, Chloroflexi, Acidobacteria y Thermus. **Discusión:** Estos grupos de bacterias llevan a cabo procesos como la fijación de nitrógeno, producción de hormonas, pigmentos y vitaminas que contribuyen con la nutrición, protección y regulación del crecimiento del líquen. **Conclusión:** Los líquenes pueden considerarse como un micro-ecosistema que cuenta con interacciones simbióticas mutualistas entre varios organismos y su estudio es importante ya que permite comprender con mayor profundidad su importancia ecológica.

Palabras clave: bacterias no fotosintéticas, líquen, metabolismo, mutualismo, simbiosis, supervivencia.

ABSTRACT

Introduction: Lichens are mutualistic symbiotic associations between a fungus and one or more green algae or cyanobacteria. Interactions between lichens and non-photosynthetic bacteria have currently been reported, however, it is not known in detail how they occur, and the diversity and potential of this relationship have not yet been fully explored. With the use of new molecular tools and new culture methods, the functions of non-photosynthetic bacteria related to lichens were detailed and, therefore, it was possible to analyze their symbiotic association. Therefore, this research aims to analyze the diversity of non-photosynthetic bacteria and their metabolic processes that allow the survival of lichens. **Methodology:** From the search and analysis of recent works (2015-2020), the phyla of non-photosynthetic bacteria present in lichens were obtained and the metabolic processes of these bacteria were analyzed in relation to the survival of the lichens in which they were found. **Results:** The bacterial phyla frequently found in lichens are Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes Verrucomicrobia, Chloroflexi, Acidobacteria y Thermus, **Discussion:** These groups of bacteria carry out processes such as nitrogen fixation, production of hormones, pigments and vitamins that contribute to the nutrition, protection and regulation of the growth of the lichen. **Conclusion:** Lichens can be considered as a micro-ecosystem that has mutualistic symbiotic interactions between various organisms and their study is important since it allows us to understand their ecological importance in greater depth.

Keywords: Non-photosynthetic bacteria, lichen, metabolism, mutualism, symbiosis, survival.

INTRODUCCIÓN

“Los líquenes son asociaciones simbióticas mutualistas entre un micobionte (hongo) y uno o más fotobiontes (alga verde o cianobacteria)” [1], que forman una estructura conocida como talo liquénico [2], esta estructura les permite a los líquenes ser tolerantes a temperaturas

extremas, pocos nutrientes, baja disponibilidad de agua y altas intensidades de luz ultravioleta, además, este tipo de asociaciones pueden encontrarse en muchos hábitats [3].

A través de los años, se ha estudiado a los líquenes y se han descubierto detalles respecto

a su importancia ecológica y posibles aplicaciones biotecnológicas. Se conoce que estos organismos realizan funciones que aportan y permiten el flujo de nutrientes en los ecosistemas terrestres, proporcionan un hábitat para organismos invertebrados, son fuente de alimento para organismos más grandes como los mamíferos y almacenan agua entre otras,

además es importante mencionar que abarcan el 8% de la superficie de la tierra. La figura 1 nos muestra una escala en tamaño de organismos que interactúan con los líquenes, en los que aquellos de menor tamaño proporcionan una provisión de hábitat, mientras que los de mayor tamaño proveen una fuente de alimento [1].

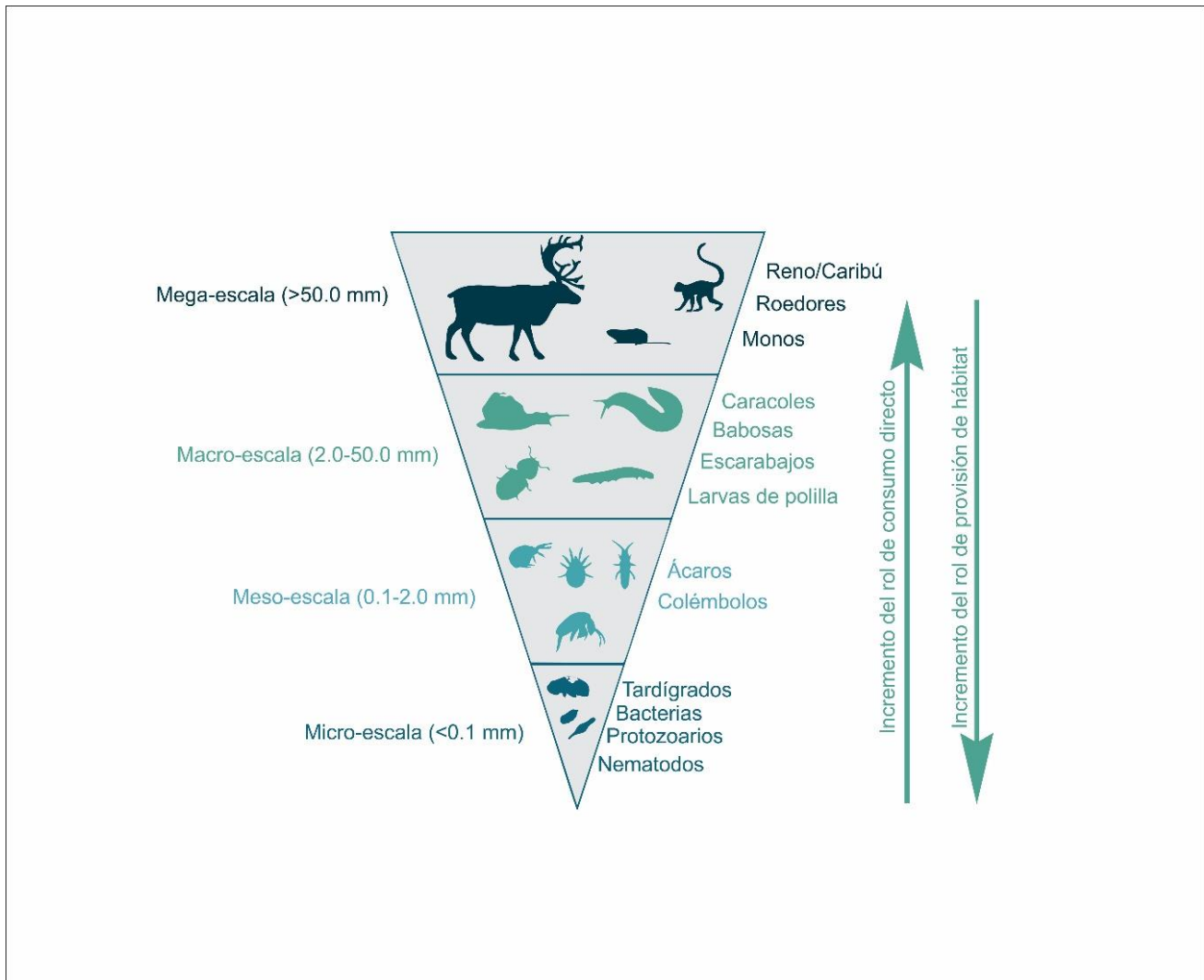


Figura 1. Organismos que establecen diferentes tipos de interacciones con líquenes de acuerdo a su tamaño. Tomado de Asplund y Wardle, 2017 [1].

Las primeras interacciones y relaciones entre los líquenes y bacterias no fotosintéticas se reportaron desde 1925, en ellos se menciona la presencia de diversos géneros bacterianos como *Azotobacter*, *Pseudomonas* (Gamma-proteobacteria), *Beijerinckia* (Alpha-proteobacteria), *Bacillus* y *Clostridium* [4].

Las bacterias asociadas a líquenes pueden participar o estar relacionadas en procesos como la movilización del hierro y fosfatos, producción de hormonas, fijación de nitrógeno y varias actividades líticas [5]. De manera que los líquenes podrían contar con compuestos vitales para su supervivencia gracias a los microorganismos presentes en su talo y alrededor de ellos [6].

Desde que se reportó por primera vez una relación entre los líquenes y bacterias de tipo no fotosintéticas, se llevaron a cabo investigaciones enfocadas en la función de éstas, sin embargo, la identificación de los miembros de las comunidades bacterianas en detalle es complicada [4], debido a que los líquenes crecen de manera lenta y su cultivo es difícil [7]. Es probable que las bacterias asociadas a los líquenes que no crecen en medios de cultivo sean aquellas que son simbiontes obligados debido a que requieren condiciones muy específicas para su crecimiento [8].

Se ha recurrido al uso de nuevas tecnologías y

métodos para el estudio de bacterias asociadas a líquenes, como los realizados por Cardinale, Puglia y Grube en 2006 [9] basándose en herramientas moleculares de análisis de ARNr 16S, donde se analizaron las bacterias presentes en ocho especies de líquenes. En el caso del trabajo de Sigurbjornsdottir *et al.*, 2015 [3], los autores utilizaron la metagenómica para analizar el papel de la microbiota asociada al líquen *Peltigera membranacea* y se encontró que las bacterias relacionadas contenían genes involucrados en la solubilización de fosfato y la degradación de biopolímeros [3]. Mediante el uso de esta herramienta, se puede analizar la genética de las comunidades bacterianas y además aportar una mayor descripción que los métodos filogenéticos.

Biosca *et al.*, 2016 [10], presentaron una técnica innovadora y utilizaron medios de cultivo enriquecidos con extractos de líquenes y con el fungicida natamicina para analizar las bacterias asociadas a los líquenes *Pseudevernia furfuracea*, *Ramalina farinacea* y *Parmotrema pseudotinctorum*, ellos encontraron que este método recupera una gran diversidad de bacterias presentes en los líquenes y evaluaron su abundancia.

Sin embargo, de acuerdo con Sierra *et al.*, 2020 [11], el establecimiento de las bacterias en los líquenes es poco conocido, se cree que esto depende del fotobionte, del hábitat o de las

bacterias presentes en musgos adyacentes [11]. También se considera que puede estar relacionado con la edad del talo y los metabolitos secundarios producidos por el hongo [12]. De manera que los factores que definen o influyen en la colonización o presencia de las bacterias no fotosintéticas en los líquenes son inciertos.

La diversidad y la biología, en relación al potencial de las bacterias asociadas a los líquenes, aún no han sido exploradas totalmente, como en el caso de aquellos que se ubican en ambientes marinos o litorales, los cuales podrían contener bacterias que producen nuevos e importantes componentes [13], cuya distribución espacial no está clara [14].

La asociación de bacterias no fotosintéticas y líquenes comienza a reconocerse a detalle, por ello, desde que se hizo referencia a esta relación, los trabajos se enfocan en desarrollar métodos y técnicas adecuadas que permitan identificar los grupos bacterianos frecuentemente presentes en estos organismos, además de describir a detalle los procesos que realizan y favorecen la supervivencia de los líquenes en diferentes lugares. Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar la diversidad de bacterias no fotosintéticas y los procesos metabólicos de éstas que permiten la supervivencia de los líquenes.

METODOLOGÍA

En esta investigación documental, longitudinal y retrospectiva, se seleccionaron artículos recientes (entre 2015 a 2020), relacionados con filos de bacterias no fotosintéticas presentes en los líquenes y cuyos resultados permitieran analizar con mayor detalle su relación simbiótica. Posteriormente, estos filos se clasificaron con base en los procesos metabólicos que realizan, como la producción de compuestos con potencial antibacteriano y antifúngico, movilización del hierro y fosfatos, producción de hormonas, fijación de nitrógeno y actividades líticas. A partir de ello, se realizó un análisis para comprender cómo todos los procesos metabólicos que realizan los diferentes grupos de bacterias no fotosintéticas encontrados en estas investigaciones, permiten la supervivencia de los líquenes en diferentes hábitats.

RESULTADOS

Se analizaron 12 artículos, entre los años 2015-2020, que reportaron y explicaron la presencia de bacterias no fotosintéticas en líquenes. La información contenida en estos trabajos (filos de bacterias encontrados, funciones, liquen estudiado y referencia) se presenta a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Revisión de estudios enfocados en bacterias no fotosintéticas presentes en líquenes y los procesos metabólicos que realizan.

Filos encontrados	Procesos metabólicos	Liquen estudiado	R
Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes.	Producción de sustancias antagonistas como la espermidina.	<i>Lobaria pulmonaria</i> .	[7]
Proteobacteria (específicamente Alphaproteobacteria orden Rhizobiales)	Producción de auxinas, octadecanoides vegetales, cofactores, grupos prostéticos, pigmentos, vitaminas, contribuyen a la síntesis de folato, pterinas, coenzima B12, la fijación de nitrógeno, de dióxido de carbono, metabolismo del carbono y otros procesos relacionados con la protección contra el estrés oxidativo.	<i>Lobaria pulmonaria</i> .	[15]
Proteobacteria (clase Alphaproteobacteria, ordenes Rhizobiales y Sphingomonadales), Cyanobacteria y Acidobacteria	Metabolismo y solubilización de fosfato, mecanismos de resistencia contra patógenos (bombas de eflujo, genes que codifican resistencia a antibióticos), producción de metabolitos secundarios (fenazina y ácido clavulánico), resistencia a metales (cobre, cobalto, zinc, cadmio, plata, mercurio y arsénico), protectores de estrés oxidativo, metabolismo de cofactores, vitaminas y grupos prostéticos, biosíntesis de tetrapirrol (coenzima B12, tiamina), biotina, cobalamina, auxina, policétidos, terpenoides y ácido fólico, biodegradación y metabolismo de xenobióticos, compuestos fenólicos, utilización de quitina y N-acetilglucosamina, degradación de proteínas y fijación de dióxido de carbono.	<i>Lobaria pulmonaria</i> .	[5]
Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria y Actinobacteria.	Síntesis de compuestos bioactivos (aquellos que tienen funciones en los seres vivos), como los policétidos.	<i>Lichina confinis</i> , <i>Lichina pygmaea</i> <i>Rocella fuciformes</i> y <i>Collema auriforme</i> .	[13]
Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Firmicutes y Acidobacteria	Procesos celulares responsables del metabolismo de carbohidratos, aminoácidos, transporte de nucleótidos, coenzimas y lípidos, producción y conversión de energía.	<i>Peltigera membranacea</i> .	[3]
Proteobacteria, Bacteroidetes/Chlorobi, Actinobacteria, Cyanobacteria y Fibrobacteres/Acidobacteria	Biodegradación, metabolismo xenobiótico, de terpenoides, policétidos, aminoácidos, cofactores, vitaminas, carbohidratos y lípidos, biosíntesis y metabolismo de glucanos, biosíntesis de metabolitos secundarios como terpenos, flavonas y péptidos no ribosomales.	<i>Peltigera hymenina</i> .	[14]
Proteobacteria (Alphaproteobacteria específicamente género <i>Sphingomonas</i>), Bacteroidetes, Actinobacteria y Firmicutes	Producción de biosurfactantes (ramnolípidos producidos por <i>Pseudomonas</i>), solubilización de fosfato inorgánico, fijación de nitrógeno, actividad glucanólítica (beta glucanasa, celulosa y xilanas), actividad quitinolítica, degradación de naftaleno y de partes viejas de liquen.	<i>Peltigera membranacea</i> .	[12]
Proteobacteria, Verrucomicrobia y Bacteroidetes.	Metabolismo de potasio, hierro, fosfato, nitrógeno, compuestos aromáticos y azufre, mecanismos de degradación (fenilpropanoides, xilenoides y cresoles), síntesis de la hormona auxina, transporte de amoníaco y potasio, amonificación de nitratos y nitritos, producción de óxidos nítricos, síntesis de vitaminas (riboflavina y biotina), respuesta a estrés oxidativo y choque térmico, resistencia a antibióticos (fluoroquinolonas, betalactamasas y bombas de eflujo) y compuestos tóxicos, quimiotaxis, cofactores y antioxidantes.	<i>Lobaria pulmonaria</i> .	[16]
Chloroflexi, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Firmicutes.	Mecanismos de resistencia ante arsénico, alta temperatura y humedad.	<i>Cladonia furcata</i> y <i>Peltigera polydactylus</i> y <i>Lobaria pulmonaria</i> .	[17]
Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi y Thermus.	Síntesis de carotenoides, absorción de fosfatos del agua de mar y degradación de materia orgánica.	<i>Lichina pygmaea</i> , <i>Lichina confinis</i> y <i>Xanthoria aureola</i> .	[18]
Actinobacteria, Firmicutes y Proteobacteria	Producción de metabolitos secundarios como ravidomicina, furaquinocina y paromomicina con actividad antimicrobiana	<i>Usnea</i> sp. y <i>Ramalina</i> sp.	[19]
Proteobacteria, Cyanobacteria, Acidobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes y Actinobacteria	Actividad antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	<i>Cora</i> , <i>Hypotrachyna</i> , <i>Usnea</i> , <i>Cladonia</i> , <i>Peltigera</i> , <i>Stereocaulon</i> y <i>Sticta</i> .	[11]

R significa referencia.

Lobaria pulmonaria

La mayor parte de los trabajos revisados, se centran en el líquen *Lobaria pulmonaria*. Cernava *et al.*, 2015 [7], analizaron las propiedades antagónicas de las bacterias presentes en este líquen contra patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (patógenos de humanos), *Botrytis cinerea* y *Rhinocladoniella* sp. (patógenos de plantas y líquenes). Respecto a la comunidad bacteriana presente en este líquen, que ha sido analizada con técnicas de cultivo y ómicas, se observó conformada por Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes; los géneros *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas* y *Burkholderia* presentaron una mayor abundancia. Además, se encontró que las cepas de *Stenotrophomonas* contienen genes vinculados con la espermidina. Este estudio confirmó que los líquenes cuentan con bacterias con potencial antagonista, que pueden ser activas en plantas y pueden potenciar la resistencia del líquen ante patógenos y la desecación.

El orden Rhizobiales desempeña una importante función en este líquen; Erlacher *et al.*, 2015 [15] analizaron la presencia del orden de bacterias Rhizobiales en el líquen *Lobaria pulmonaria* L. A través de estudios de metagenómica confirmaron la presencia específicamente de las familias

Methylobacteriaceae, *Bradyrhizobiaceae* y *Rhizobiaceae*, además realizaron un análisis que permitió detallar las funciones como: producción de auxinas, octadecanoides vegetales, cofactores, grupos prostéticos, pigmentos, vitaminas, pterinas, coenzima B12, la fijación de nitrógeno y dióxido de carbono, también contribuyen a la síntesis de folato, metabolismo del carbono y otros procesos relacionados con la protección contra factores estresantes. En este estudio se observó que las bacterias colonizan la superficie externa de la corteza del líquen, pero también pueden colonizar las hifas del micobionte internamente, además de un grupo que no pudo ser clasificado debido a que aún no ha sido descrito. Se destacó que la presencia de Rhizobiales en las zonas de crecimiento de *Lobaria pulmonaria* podría contribuir a su desarrollo y crecimiento. Con respecto a la fijación de nitrógeno, no está claro si este proceso es llevado a cabo por las bacterias Rhizobiales o por la cianobacteria que forma parte de la simbiosis.

Grube *et al.*, 2015 [5] a través del uso de herramientas metagenómicas y proteómicas, detectaron bacterias con actividades relacionadas con el metabolismo y solubilización de fosfato, mecanismos de resistencia contra patógenos (bombas de eflujo, genes que codifican resistencia a antibióticos),

producción de metabolitos secundarios (fenazina y ácido clavulánico), resistencia a los metales (cobre, cobalto, zinc, cadmio, plata, mercurio y arsénico), protectores del estrés oxidativo, metabolismo de cofactores, vitaminas y grupos prostéticos, biosíntesis de tetrapirrol (coenzima B12, tiamina) de biotina, de cobalamina, de auxina, policétidos, terpenoides y ácido fólico, biodegradación y metabolismo de xenobióticos, compuestos fenólicos, utilización de quitina y N-acetilglucosamina, degradación de proteínas y fijación de dióxido de carbono. Los filos encontrados fueron Proteobacteria (clase Alphaproteobacteria, con mayor frecuencia los órdenes Rhizobiales y Sphingomonadales),

Cyanobacteria y Acidobacteria. Es importante mencionar que dichos autores, señalan que las bacterias que están en la superficie del líquen están adaptadas al estrés abiótico; en cambio, las bacterias que realizan funciones como la fijación del nitrógeno o carbono, están preferentemente en la parte interna de las estructuras del hongo. Por lo que el hallazgo de procesos y metabolitos producidos por bacterias que permiten el crecimiento y la supervivencia del líquen en lugares extremos, hablan de interacciones entre alga-bacteria (síntesis de vitamina B12 y otros cofactores) y de interacciones hongo-bacteria (suministro de nutrientes y resistencia contra otros patógenos) (Figura 2).

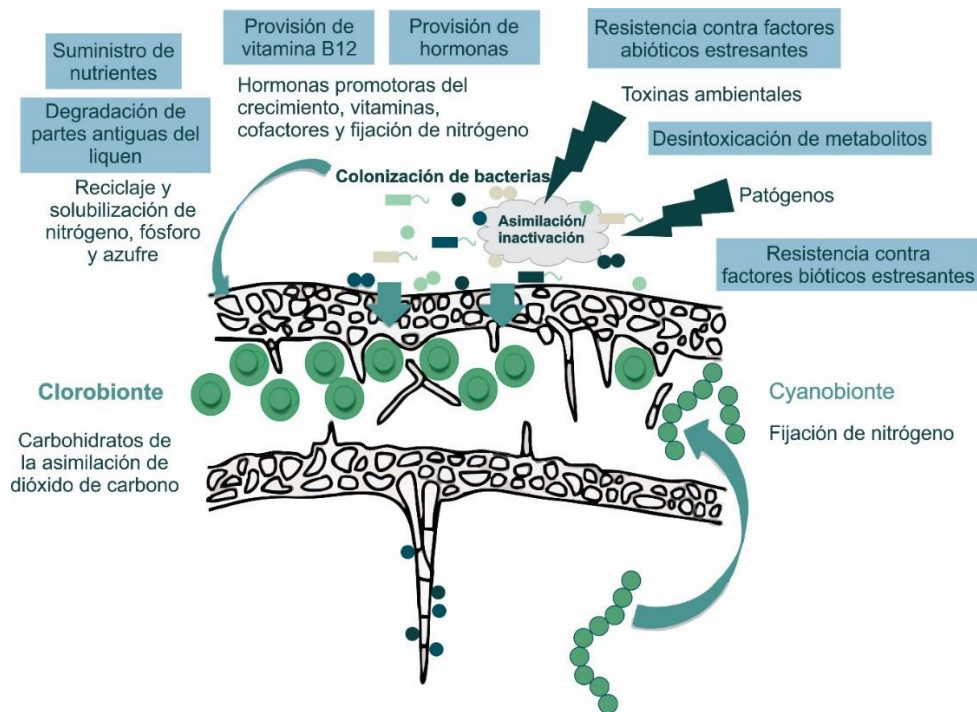


Figura 2. Las bacterias llevan a cabo importantes procesos para la supervivencia de los líquenes. Tomado de Grube *et al*, 2015 [5].

Cernava *et al.*, 2017 [16] analizaron las bacterias no fotosintéticas asociadas a *Lobaria pulmonaria* a través de meta-ómica y obtuvieron que los órdenes Rhizobiales, Sphingomonadales, Rhodospirillales, Myxococcales (del filo Proteobacteria), Chthoniobacterales (del filo Verrucomicrobia) y Sphingobacteriales (del filo Bacteroidetes) están presentes en este líquen. Estas bacterias desarrollan procesos como el metabolismo de potasio, nitrógeno, hierro, fosfato, azufre y mecanismos de degradación de compuestos aromáticos (fenilpropanoides, xilenoides y cresoles), síntesis de la hormona auxina,

transporte de amoníaco y potasio, amonificación de nitratos y nitritos, producción de óxidos nítricos, síntesis de vitaminas (riboflavina y biotina), respuesta a estrés oxidativo y choque térmico, resistencia a antibióticos (fluoroquinolonas, betalactamasas y bombas de eflujo) y compuestos tóxicos, quimiotaxis, cofactores y antioxidantes. Su estudio contribuyó a comprender los procesos que desarrolla el filo Verrucomicrobia en *Lobaria pulmonaria* los cuales no habían sido analizados. Este filo incluye bacterias que degradan diversos carbohidratos complejos como la celulosa y xilano (Figura 3).

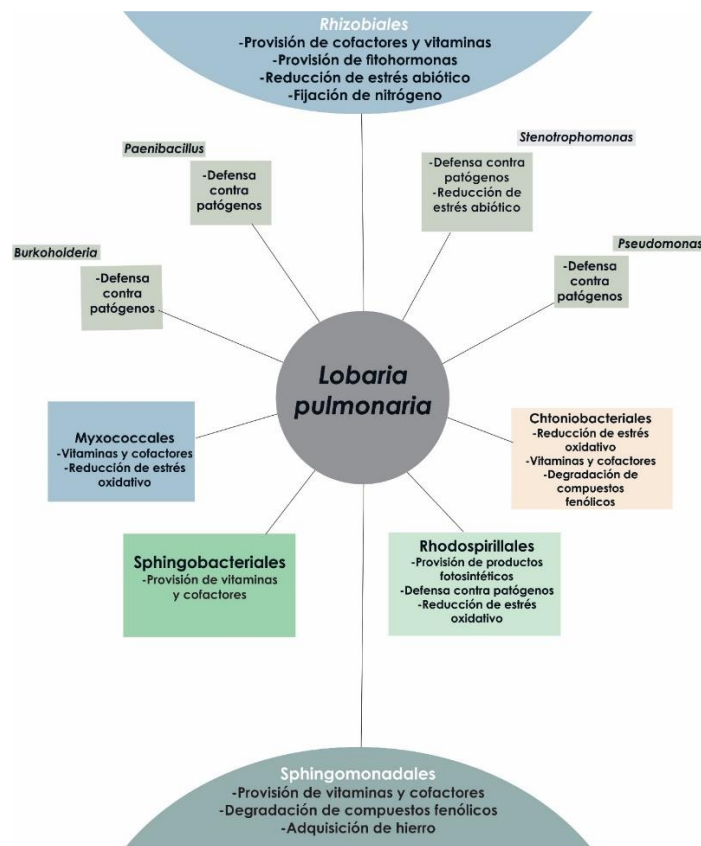


Figura 3. Funciones de las bacterias en el líquen *Lobaria pulmonaria*. Los tamaños de los rectángulos y esferas representan la abundancia de los grupos. Tomado de Cernava et al, 2017 [16].

Lichina confinis, *Lichina pygmaea* (líquenes marinos), *Rocella fuciformes* (líquen litoral), *Collema auriforme* (líquen terrestre) y *Xhantoria aureola* (líquen marítimo)

Parrot *et al.*, 2015 [13] analizaron las propiedades de las bacterias del filo Actinobacteria presentes en los líquenes *Lichina confinis*, *Lichina pygmaea* (líquenes marinos), *Rocella fuciformes* (líquen litoral) y *Collema auriforme* (líquen terrestre) y reportaron el hallazgo de los filos Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria y Actinobacteria (familias Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Gordoniaceae, Micrococcaceae, Mycobacteriaceae, Nocardioideae, Promicromonosporaceae, Pseudonocardiaceae, Sanguibacteraceae y Streptomycetaceae). A través de cribado de genes, notaron que las Actinobacterias tienen potencial para la síntesis de compuestos bioactivos al notar la presencia de policétidos sintasas I y II. En este estudio resaltaron que Actinobacteria cuenta con bacterias con un gran potencial para la síntesis de compuestos bioactivos además de que influye en el metabolismo secundario del hongo del líquen por lo que, a partir de ello, las interacciones de este tipo pueden estudiarse con mayor detalle. West *et al* en 2018 [18], analizaron a través de la secuenciación del gen 16S ARNr las bacterias no fotosintéticas asociadas a los

líquenes *Lichina pygmaea*, *Lichina confinis* (líquenes marinos) y *Xhantoria aureola* (líquen marítimo), y detectaron que los líquenes marinos están dominados por bacterias del filo Bacteroidetes (géneros *Rubricoccus*, *Tunicatimonas* y *Lewinella*); los líquenes marítimos y terrestres cuentan mayormente con Proteobacteria (género *Sphingomonas*). Además, los líquenes marinos presentan bacterias de los filos Chloroflexi y Thermus es decir, bacterias termófilas y resistentes a la radiación. En este estudio, las bacterias encontradas en los líquenes marinos también están presentes en anémonas de mar, corales y algas rojas. Se conoce que estas bacterias producen componentes bioactivos lo cual, podría contribuir a la resistencia del líquen en condiciones estresantes.

Peltigera membranacea

Sigurbjörnsdóttir *et al.*, 2015 [3] realizaron un estudio en el que a través de metagenómica analizaron el genoma de las bacterias no fotosintéticas asociadas al líquen *Peltigera membranacea*, con el fin de detallar los procesos que realizan y se encontró que este grupo está conformado mayormente por bacterias del filo Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Firmicutes y Acidobacteria. Además, se mostró la presencia de bacterias con genes que codifican para

enzimas relacionadas a procesos celulares, fosfatasa (las cuales se relacionaban con la solubilización de fosfato, principalmente en Alphaproteobacteria), proteínas asociadas a pirroloquinolina quinona, proteínas responsables del metabolismo de carbohidratos, aminoácidos, transporte de nucleótidos, coenzimas y lípidos. Se menciona que el hallazgo de celulosas en este líquen podría contribuir a la degradación de partes antiguas del talo líquénico, además de contribuir a las actividades saprófitas cuando los líquenes están cubiertos por nieve.

Un año después de esta investigación, Sigurbjörnsdóttir y Vilhelmsson en 2016 [12] aislaron 110 cepas bacterianas asociadas al líquen *Peltigera membranacea* y encontraron que estos grupos pertenecían a los filos Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria y Firmicutes. Encontraron que las bacterias no fotosintéticas poseen genes relacionados con la producción de biosurfactantes (ramnolípidos producidos por *Pseudomonas*), solubilización de fosfato inorgánico, fijación de nitrógeno, actividad glucanolítica (beta glucanasa, celulosa y xilanas), actividad quitinolítica, degradación de naftaleno y de partes viejas de líquen. Este estudio es de suma importancia debido a que muestra que grupos de bacterias no fotosintéticas presentes en plantas, también se encuentran en líquenes.

Peltigera hymenina

Garg *et al* en 2016 [14], analizaron el orden de las moléculas y el microbioma asociado al líquen *Peltigera hymenina* a través de espectrometría de masas por imágenes de desorción láser asistida por matriz de tiempo de vuelo de ionización (MALDI-TOF) y secuenciación de metagenomas. Resaltaron que el líquen está compuesto por 324 filos, con un 80.9% de bacterias no fotosintéticas y sólo el 5.2% de ellas corresponde a cianobacterias, 0.001% de arqueas y 18.8% de eucariotas de las que 17.1% eran hongos. Los filos principalmente detectados fueron Proteobacteria, Bacteroidetes/Chlorobi, Actinobacteria, Cyanobacteria y Fibrobacteres/Acidobacteria. Se encontraron genes relacionados con virus, biodegradación, metabolismo xenobiótico, aminoácidos, cofactores, vitaminas, carbohidratos y lípidos, biosíntesis y metabolismo de glucanos, biosíntesis de metabolitos secundarios como terpenos, flavonas y péptidos no ribosomales y policétidos. En este estudio se menciona, que hay un orden en las moléculas del líquen, además, que los hongos y las bacterias podrían contribuir a la protección del líquen a partir de la secreción de sustancias de defensa.

Cladonia furcata y *Peltigera polydactylus*

Cernava *et al.*, 2018 [17], a través de análisis

metagenómicos estudiaron la presencia y respuesta de las bacterias asociadas a los líquenes *Cladonia furcata* y *Peltigera polydactylus* que se encontraban en zonas con altas concentraciones de arsénico en Austria y también se estudió a detalle el líquen *Lobaria pulmonaria*. Obtuvieron que 22 clases de bacterias principalmente Dehalococcoidetes (del filo Chloroflexi), Alphaproteobacteria (del filo Proteobacteria), *Leifsonia*, *Micrococcus*, *Streptomyces* (filo Actinobacteria), *Pedobacter* (filo Bacteroidetes) y *Staphylococcus* (del filo Firmicutes) presentan genes relacionadas con desintoxicación. Por ejemplo, genes de la proteína de resistencia al arsénico ACR3, la bomba de flujo de arsénico, la proteína de resistencia al arsénico ArsH con actividad metil arseniato oxidasa. Este estudio es de suma importancia debido a que mostró que las bacterias asociadas a los líquenes presentan resistencia a condiciones de estrés.

Usnea, Ramalina, Cora, Hypotrachyna, Cladonia, Peltigera, Sterocaulon y Sticta

El estudio realizado por Kim *et al.*, 2019 [19], muestra el potencial antimicrobiano de las bacterias no fotosintéticas asociadas a los líquenes *Usnea sp.* y *Ramalina sp.* presentes en el Himalaya. De este estudio, se obtuvieron 49 bacterias las cuales fueron estudiadas con análisis filogenéticos (análisis BLAST de

secuencias de genes de ARNr 16S) y se obtuvo que 17 especies pertenecen al filo Actinobacteria, 19 especies a Firmicutes y 13 especies a Proteobacteria. Las 17 especies de Actinobacteria fueron clasificadas en *Curtobacterium spp.*, *Leifsonia spp.*, *Streptomyces spp.* y *Rhodococcus spp.* A través de una prueba de difusión con disco de gel, se estudió la actividad antimicrobiana de las muestras contra cepas resistentes a otros fármacos, observándose que en 3 cepas de los géneros *Bacillus*, *Methylobacterium* y *Streptomyces*, se presentaba una gran actividad antimicrobiana. Por medio de un análisis biosintético “fringerprinting” de genes PKS (policétido sintasa) y NRPS (péptido no ribosomal) observaron que la mayoría de las cepas tienen genes relacionados con PKS-NRPS; que se relacionan con la síntesis de ácidos grasos. Además, se estudió el genoma de la cepa *Streptomyces mauvecolor*, ya que presentaba la mayor actividad antimicrobiana y obtuvieron que esta cepa contaba con 46 grupos de genes relacionados con la producción de metabolitos secundarios (ravidomicina, furaquinocina, paromomicina, surfactina, entre otros), estos grupos de genes contenían genes PKS (aciltransferasa y la proteína transportadora de acilo).

Sierra *et al.*, 2020 [11], utilizaron secuenciación de amplicones de genes ARNr 16S para

identificar y describir filos de bacterias en siete líquenes de los géneros *Cora*, *Hypotrachyna*, *Usnea*, *Cladonia*, *Peltigera*, *Stereocaulon* y *Sticta* presentes en dos páramos de Colombia y encontraron que principalmente, los filos de bacterias que se encuentran en estos líquenes son Proteobacteria (siendo Gammaproteobacteria y Alphaproteobacteria los grupos frecuentes), Cyanobacteria, Acidobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes y Actinobacteria. A través de un análisis de abundancia diferencial de todos estos grupos, se identificó que 16 OTU (Unidad Taxonómica Operativa) se encontraban en todas las muestras, sugiriendo que hay una comunidad en común en todos los líquenes, la cual está conformada por los filos Proteobacteria (específicamente por Rhizobiales, Rhodospirillales y Sphingomonadales), Acidobacteria y Cyanobacteria. Del filo Actinobacteria se encontró que producen componentes con características antibacterianas y antifúngicas, para ello, fueron utilizados microorganismos de importancia médica y que presentan resistencia a los antibióticos como *Salmonella enterica subsp. enteritidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

DISCUSIÓN

Con base a las investigaciones analizadas, los líquenes son organismos que no solo están conformados por un micobionte y un fotobionte sino que interactúan y están relacionados con grupos de bacterias no fotosintéticas. Cada uno de los organismos que forman parte del líquen desempeña importantes funciones; los fotobiontes (que están protegidos por las estructuras del hongo) proveen carbohidratos y las bacterias aparecen como un componente más a esta relación simbiótica cubriendo el talo del líquen como una biopelícula [2] y desempeñando importantes funciones. Las bacterias se beneficiarían de las paredes celulares de las hifas fúngicas, a cambio proporcionan a través de sus procesos metabólicos, longevidad al líquen [5].

Gracias al uso de medios de cultivo o herramientas como la metagenómica, proteómica y la espectrometría, se han logrado detallar los procesos que llevan a cabo las bacterias no fotosintéticas, incluso la combinación de técnicas tanto de cultivo como moleculares proporcionando más detalles respecto a la estructura e importancia de estas bacterias [20]. Los filos de bacterias no fotosintéticas que se identifican con frecuencia en los líquenes son Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes y con menor frecuencia los filos Verrucomicrobia,

Chloroflexi, Acidobacteria y Thermus. De los estudios analizados, el filo de bacterias que se ha encontrado con mayor frecuencia corresponde a Proteobacteria, específicamente los grupos de bacterias pertenecientes a Alphaproteobacteria. Otros organismos como protistas, virus y arqueas han sido descubiertos en estos organismos, por lo que los líquenes podrían considerarse como micro-ecosistemas [21].

Las bacterias no fotosintéticas son esenciales para la nutrición, protección y regulación del crecimiento del líquen [16], puesto que a través de estudios se han detectado procesos como la fijación del nitrógeno, la solubilización de fosfatos, producción de hormonas, pigmentos y vitaminas. Además, se ha identificado la síntesis de metabolitos secundarios con propiedades antagonistas y desintoxicación ante sustancias como el arsénico [17]. La interacción y relación de bacterias y líquenes puede también depender del hongo que forme parte de la simbiosis, además en líquenes como *Lobaria pulmonaria* se detectó que las bacterias se encontraban en propágulos vegetativos del líquen lo que permite una transmisión vertical en la reproducción asexual [21]. Con respecto a su ubicación, las bacterias pueden encontrarse en la parte interna y externa del líquen dependiendo de las interacciones que mantenga con el micobionte y fotobionte [5].

Los líquenes son organismos de especial interés no sólo por su importancia ecológica, sino porque también pueden considerarse un ejemplo claro de una relación simbiótica mutualista, en el que se presentan micobiontes, fotobiontes y bacterias no fotosintéticas que a través de sus procesos permiten la supervivencia de los líquenes. Todos estos hallazgos son gracias a las nuevas herramientas moleculares u otros métodos de cultivo propuestos, los cuales han permitido identificar gran parte de la diversidad de bacterias no fotosintéticas asociadas a estos organismos, sus funciones y comenzar a visualizar su importancia médica, biotecnológica y especialmente ecológica. Se espera que las investigaciones futuras puedan aportar más detalles acerca de sus futuras aplicaciones, su evolución o su cuidado y protección. Estudiar más allá de ello y descubrir las características de esta relación es de suma importancia ya que permite ampliar el concepto de simbiosis mutualista.

CONCLUSIÓN

Con base en el análisis realizado, las bacterias no fotosintéticas de los filos Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia, Chloroflexi, Acidobacteria y Thermus están presentes en los líquenes y realizan importantes procesos como la fijación

de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de hormonas, pigmentos y vitaminas, síntesis de metabolitos secundarios entre otros. Estos procesos permiten la nutrición, protección, regulación del crecimiento y el establecimiento de estos organismos en lugares extremos. Por lo que los líquenes podrían ser considerados como microecosistemas que se relacionan simbióticamente con una diversidad de microorganismos y que estos microorganismos poseen potencial para futuras aplicaciones, por ello su estudio es de vital importancia y además da detalles respecto a su importancia ecológica.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Estancia académica virtual del XXV Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico por permitirnos realizar este trabajo.

REFERENCIAS

[1] Asplund, J., & Wardle, D. A. How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews* 2017; 92(3): 1720-1738.

[2] Cernava, T., Berg, G., & Grube, M. High life expectancy of bacteria on lichens. *Microbial ecology* 2016; 72 (3): 510-513.

[3] Sigurbjörnsdóttir, M. A., Andresson, O.S., & Villhelmsson, O. Analysis of the *Peltigera membranacea* metagenome indicates that lichen-associated bacteria are involved in phosphate solubilization. *Microbiology* 2015; 161(5): 989-996.

[4] Aschenbrenner, I.A., Cernava, T., Berg, G., & Grube, M. Understanding microbial multi-species symbioses. *Frontiers in Microbiology* 2016; 7: 180.

[5] Grube, M., Cernava, T., Soh, J., Fuchs, S., Aschenbrenner, I., Lassek, C., et al. Exploring functional contexts of symbiotic sustain within lichen-associated bacteria by comparative omics. *The ISME journal* 2015; 9(2): 412-424.

[6] Leiva, D., Clavero-León, C., Carú, M., & Orlando, J. Intrinsic factors of *Peltigera* lichens influence the structure of the associated soil bacterial microbiota. *FEMS microbiology ecology* 2016; 92(11).

[7] Cernava, T., Müller, H., Aschenbrenner, I.A., Grube, M., & Berg, G. Analyzing the antagonistic potential of the lichen microbiome against pathogens by bridging metagenomic with culture studies. *Frontiers in microbiology*: 2015; 6:620.

[8] Hodkinson, B. P., & Lutzoni, F. A

microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the Rhizobiales. *Symbiosis* 2009; 49(3): 163-180.

[9] Cardinale, M., Puglia, A. M., & Grube, M. Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology* 2006; 57(3): 484-495.

[10] Biosca EG, Flores R, Santander RD, Díez-Gil JL & Barreno E. Innovative Approaches Using Lichen Enriched Media to Improve Isolation and Culturability of Lichen Associated Bacteria. *PLoS ONE* 2016; 11(8).

[11] Sierra, M.A., Danko, D.C., Sandoval, T.A., Pishchany, G., Moncada, B., Kolter, R., et al. The microbiomes of seven lichen genera reveal host specificity, a reduced core community and potential as source of antimicrobials. *Frontiers in microbiology* 2020; 11: 398.

[12] Sigurbjörnsdóttir, M. A., & Vilhelmsson, O. Selective isolation of potentially phosphate-mobilizing, biosurfactant-producing and biodegradative bacteria associated with a sub-Arctic, terricolous lichen, *Peltigera membranacea*. *FEMS microbiology ecology*; 2016; 92(6).

[13] Parrot, D., Antony-Babu, S., Intertaglia, L., Grube, M., Tomasi, S., & Suzuki, M. T. Littoral lichens as a novel source of potentially bioactive Actinobacteria. *Scientific Reports* 2015; 5: 15839.

[14] Garg, N., Zeng, Y., Edlund, A., Melnik, A. V., Sánchez, L. M., Mohimani, H., et al. Spatial molecular architecture of the microbial community of a peltigera lichen. *Msystems*: 2016, 1(6).

[15] Erlacher, A., Cernava, T., Cardinale, M., Soh, J., Sensen, C. W., Grube, M., et al. Rhizobiales as functional and endosymbiotic members in the lichen symbiosis of *Lobaria pulmonaria* L. *Frontiers in microbiology* 2015; 6: 53.

[16] Cernava, T., Erlacher, A., Aschenbrenner, I. A., Krug, L., Lassek, C., Riedel, K. et al. Deciphering functional diversification within the lichen microbiota by meta-omics. *Microbiome*: 2017; 5(1): 1-13.

[17] Cernava, T., Vasfiu, Q., Erlacher, A., Aschenbrenner, I.A., Francesconi, K., Grube, M., et al. Adaptations of lichen microbiota functioning under persistent exposure to arsenic contamination. *Frontiers in microbiology* 2018; 9: 2959

[18] West, N. J., Parrot, D., Fayet, C., Grube, M., Tomasi, S., & Suzuki, M. T. Marine cyanolichens from different littoral zones are associated with distinct bacterial communities. *PeerJ* 2018; 6.

[19] Kim B, Han SR, Lamichhane J, Park H & Oh TJ. Draft Genome Analysis of Antimicrobial *Streptomyces* Isolated from

Himalayan Lichen. *J. Microbiol Biotechnol*:
2019; 29: 1144-54.

[20] Spribille, T., Tagirdzhanova, G., Goyette,
S., Tuovinen, V., Case, R., & Zandberg, W. F.
3D biofilms: in search of the polysaccharides
holding together lichen symbioses. *FEMS*

Microbiology Letters 2020; 367(5).

[21] Hawksworth, D. L., & Grube, M. Lichens
redefined as complex ecosystems. *New*
Phytologist 2020; 227 (5), 1281.