RESPUESTA VEGETAL AL ESTRÉS METÁLICO[1]

Vegetal response to metal stress

Sergio González M.[2]

SUMMARY

Metals can be phytotoxic because of their capacity to trigger some specific physiological mechanisms which may induce plant death. Excess of metals are able to **interact with aminoacid functional groups**, leading to protein misfunction, to **induce an excessive production of free-radicals**, highly toxic due to their high oxidative capacity (lipoperoxidation as one of the most important expressions) and to **alter the antioxidative defence system**.

Nevertheless, some plants are able to tolerate the metal excess and live normally even under a metallic stress condition. This tolerance –mainly genetically regulated– to the metal stress is due to some physiological mechanisms, triggered by the metal stress, among them being the next ones:

- **metal exclusion**, due barriers that impede a metal excessive uptake and keep the intracell metal content within normal values; this may happen by a root-level barrier and/or by a root-induced alkalinization of its very close surrounding,
- **accumulation and internal detoxification**, meaning the neutralisation of the metal excess activity by means of inducting *a synthesis of antioxidative defences* (which react with the excess of free-radicals), *proline* (an aminoacid accumulated in plants as a response to different stress conditions), *organic acid* (meaning metal transport from the protoplasm to the vacuole where it is accumulated in insoluble forms), *metalotioneins* (genetically synthesised aminoacids having cistein-rich regions, also presented in animals exposed to metal stress, which are able to complex metals) and *phytoquelatins* (enzimatically synthesised polipeptides), and
- **metal excretion**, mechanisms that allow the plants to eliminate the metal excess to the external environment.

Key words: Metal stress, heavy metal, lipoperoxidation, proline, phytoquelatines, metalotioneins.

INTRODUCCIÓN

Los metales conforman un numeroso grupo de elementos químicos, que se presentan en la corteza terrestre en concentraciones <1.000 mg kg^{-1}, por lo que forman parte del universo de elementos menores o microelementos; las excepciones son el Si, Al, Fe y Mn, elementos muy abundantes en la corteza terrestre y que, por ende, son considerados macroelementos. Principalmente por sus connotaciones negativas para la vida y su asociación con procesos de contaminación ambiental, sobresalen los metales pesados, elementos con densidad 6 o más veces la del agua; entre ellos, cabe mencionar al As, Bi, Cd, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Ti, V, Zn y Zr (González, 1994a).

ROLES FISIOLÓGICOS EN VEGETALES

Algunos metales tienen una participación específica e insustituible en determinados procesos fisiológicos, siendo esenciales para la ocurrencia completa de éstos; la ausencia o carencia de ellos es, entonces, incompatible con la vida. En general, los vegetales los requieren en cantidades mínimas, por lo que se les denomina también micronutrientes.

Mientras unos (Cu, Fe, Mn, Mo, Zn) son esenciales a todos los vegetales, otros (Na, Si) lo son sólo para algunas especies; en el mundo animal, el conjunto de metales esenciales es más frondoso (Alloway,

[1]Recepción de originales: 8 de octubre de 1996.
Charla dictada en el CRI La Platina, como parte del Curso Interno de Fisiología Vegetal.
[2]Centro Regional de Investigación La Platina (INIA). Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

1994a). Normalmente, tienen en común ser cofactores de enzimas involucradas en numerosos procesos bioquímicos, como reacciones redox, fotorespiración, glicólisis, fotólisis, metabolismo de proteínas y carbohidratos, fijación simbiótica de N_2 y reducción de NO_3^-; una excepción es el Si, que parece cumplir un rol estructural, toda vez que el ácido silícico reacciona con precursores de la síntesis de lignina, para formar complejos mono, di o poliméricos (Kabata-Pendias y Pendias, 1984; Mengel y Kirby, 1987; Taiz y Zeiger, 1991).

Para la gran mayoría de los metales, no se ha comprobado alguna acción fisiológica específica en plantas, no obstante que elementos como As, Cd, Hg, Li, Ni, Pb, Se, V, W y Zr son absorbidos normalmente por las plantas y participan en reacciones bioquímicas, aunque sin la requerida condición de especificidad y esencialidad.

ESTRÉS METÁLICO

Definición

Los seres vivos se ven sometidos a estrés, cuando el medio en que viven posee algún factor limitante para la vida; así, el estrés es hídrico si la dotación de agua es insuficiente o excesiva, térmico si la temperatura es insuficiente o excesiva, salino si el contenido de sales es excesivo o metálico si la dotación de metales disponible es tóxica. En las plantas, el exceso de metales opera como factor de estrés que puede alterar las reacciones fisiológicas y, a través de ello, reducir el vigor o inhibir por completo el crecimiento vegetal (Baker, 1987).

Origen de los metales

La corteza terrestre sólida –por ende, los suelos– posee todos los elementos químicos naturales, los que ven reguladas sus dinámicas ambientales (solubilidad/insolubilidad; transferencia entre cuerpos naturales, disponibilidad/absorción por seres vivos) por características y propiedades del sistema ambiental al que pertenecen. Así, las plantas están siempre en contacto con la más amplia gama de metales, lo que no constituye en sí un motivo de especial preocupación.

Los metales proceden de los minerales existentes en las rocas. Expuestas en superficie a los agentes naturales de evolución, éstas sufren alteraciones físicas, químicas y biológicas, lo que significa desintegración de sus redes cristalinas, disolución de metales en ambientes hídricos, recombinación de unidades cristalográficas nuevas y/o síntesis de compuestos orgánicos.

Génesis del estrés metálico

Este contacto vegetal-metal genera una condición de estrés en los vegetales cuando la oferta de metales para los vegetales –vista desde la perspectiva de sus fracciones disueltas y disponibles– es excesiva; ésto puede ocurrir cuando:

- las plantas viven en suelos de zonas metalíferas y de mineralización metálica (Baker, 1987), donde concurren elevadas concentraciones –largamente por sobre los rangos más frecuentes– de uno o varios metales, y
- las plantas viven en suelos enriquecidos artificialmente con metales residuales, relacionados con alguna actividad humana, como la agricultura, electrometalurgia, electroquímica, galvanoplastia, industria química, minería, pesca y caza e industria militar (Alloway, 1994b), lo que conduce a incrementos substanciales de la carga metálica natural en la capa superficial de los suelos.

En Chile, se dan ambas condiciones de estrés metálico. Por una parte, existen suelos cúpricos –principalmente de origen natural– en sectores aledaños al Cordón Lo Prado (Región Metropolitana) y en el valle del río Cachapoal (VI Región); por la otra, existen suelos contaminados con metales en áreas aledañas a emplazamientos mineros en los valles de los ríos Copiapó (III Región), Ligua y Aconcagua (V Región), valle costero de Puchuncaví (V Región), y río Maipo (Región Metropolitana) (INIA, 1990).

RESPUESTA VEGETAL AL ESTRÉS METÁLICO

Curva general de respuesta a metales

Toda población vegetal asume un modelo de respuesta a contenidos crecientes de metales disponibles en suelos, que se ajusta a la Ley de Tolerancia de Shelford (González, 1994b; Dajoz, 1979). Esta ley define que la conducta de individuos y poblaciones, frente a incrementos de sus factores ecológicos (como, por ejemplo, la concentración disponible de metales en suelos), queda regulada por una serie de umbrales críticos; gráficamente, esta ley se representa por la curva incluida en la Figura 1.

Las plantas pueden establecerse en un suelo sólo si la dotación metálica se sitúa entre dos límites: **el nivel mínimo de subsistencia o Nms** (válido para los esenciales) **y el nivel máximo de letalidad o NML**; este rango de contenidos metálicos equivale al **rango general de sobrevivencia**.

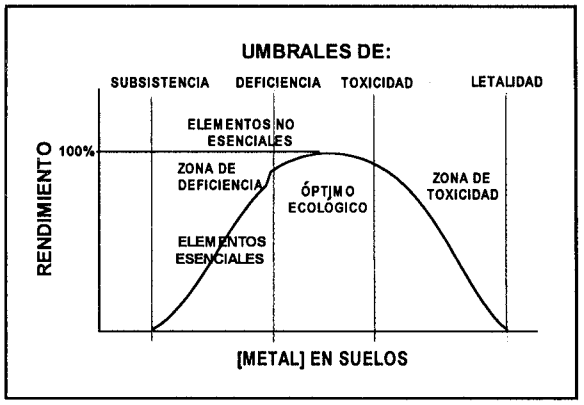

FIGURA 1. Curva de respuesta de plantas a incrementos de metales en suelos.

FIGURE 1. Vegetal response curve to metal increase in soils.

Pero, la mayor adaptación de las plantas –con máxima expresión del potencial genético– ocurre cuando la dotación metálica cae en **el rango de tolerancia u óptimo ecológico**, extendido entre **el nivel crítico de deficiencia o NCd** (válido para los esenciales) y **el nivel crítico de toxicidad o NCT**. En las restantes posiciones dentro del rango de sobrevivencia, las plantas subsistirán en forma precaria, sin completar sus procesos fisiológicos, ya sea por deficiencia (válido para los esenciales) o exceso metálico. El estrés metálico está asociado a dotaciones metálicas mayores al NCT.

Debido a que se trata de un sistema multifactorial, la localización de los umbrales críticos y la amplitud de la curva, son específicos para cada trío metal-especie vegetal-suelo. Así, dependerán no sólo de la tolerancia de las plantas y toxicidad del metal, sino que también de la especiación del metal, intensidad de exposición (concentración y duración) y, muy especialmente, la capacidad amortiguadora de los suelos y del ambiente, en general, a la actividad del metal (Baker y Walker, 1989; González, 1991).

La toxicidad no es condición privativa de los metales no esenciales. Sin embargo, es evidente que los umbrales críticos tóxicos y letales tenderán a ocurrir a valores absolutos menores para los elementos no esenciales.

Sensibilidad y tolerancia al estrés metálico

La respuesta de las plantas, a disponibilidades excesivas de metales en suelos, está regulada genéticamente. Para una especie dada, no es fácil determinar su estilo de respuesta, por cuanto puede asumir cualquiera de los modelos que se mencionarán más adelante, en función del metal, grado de sensibilidad específica e individual, y diferencia entre cultivares.

La primera división se establece en función de la tolerancia de las plantas al estrés metálico. Así, se distingue entre **individuos sensibles** y **tolerantes**, en función de la capacidad de reacción al estrés metálico y grado de alteración de sus procesos fisiológicos.

No es fácil establecer límites absolutos entre individuos sensibles y tolerantes. Tampoco lo es el agrupar las especies según su sensibilidad, ya que hay una fuerte componente individual. Ello rige tanto para especies silvestres, con amplia variabilidad genética, como para cultivadas, con alta uniformidad genética en características deseadas, entre las que no se cuenta la tolerancia al estrés metálico.

Tolerancia vegetal

Las plantas tolerantes tienen la capacidad de detonar, bajo condiciones de estrés metálico, una serie de mecanismos fisiológicos específicos, la que les permite funcionar normalmente (Baker, 1987); debe tenerse en cuenta, en todo caso, que la tolerancia no es una respuesta ilimitada. De acuerdo a la Figura 2, las alternativas de tolerancia vegetal al estrés metálico son:

- *de exclusión*: por la existencia de barreras fisiológicas a nivel radical, que impiden una absorción excesiva de metales; ello permite mantener contenidos metálicos intracelulares normales y la debida homeostasis celular, no obstante el ambiente externo agresivo, y

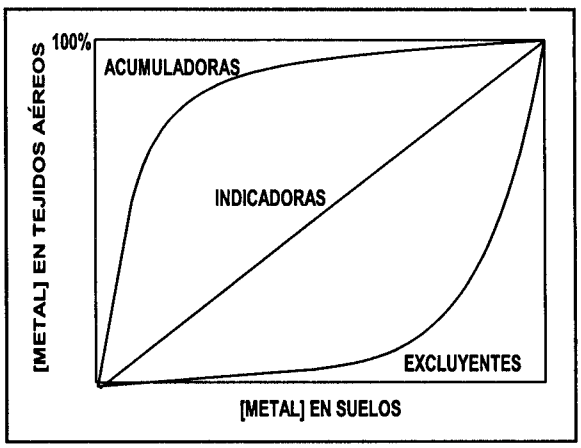

FIGURA 2. Modelos de respuesta de plantas tolerantes a excesos metálicos en suelos. Fuente: Baker (1994).

FIGURE 2. Response models of metal tolerant plants. Source: Baker (1994).

- *de acumulación y desintoxicación interna*: por procesos fisiológicos a nivel celular, que tienden a inactivar la fracción metálica absorbida en exceso; ello permite mantener la debida homeostasis celular, a pesar de una dotación metálica celular largamente por encima de los valores normales.

Existe una respuesta intermedia en que el contenido metálico intra-vegetal refleja directamente la concentración disponible en el suelo. Se les identifica como **plantas indicadoras**, que suelen usarse para tal fin en estudios prospectivos (Baker y McGrath, 1994).

Plantas hiperacumuladoras

La capacidad de acumulación puede alcanzar niveles extraordinariamente elevados, dando origen a las plantas hiperacumuladoras; en general, esta capacidad se refiere a un metal (Baker y McGrath, 1994). El Cuadro 1 presenta información del número de taxas y familias hiperacumuladoras, clasificadas sobre criterios de concentraciones foliares >1,0 (Zn, Mn), >0,1 (Co, Cu, Pb, Ni) y >0,01% (Cd).

La hiperacumulación, es respuesta evolucionaria extrema a la abundancia de metales en suelos y no es una característica común de las plantas superiores. Especies hiperacumuladoras aparecen confinadas a suelos metalíferos y mantienen altos contenidos de metales en sus tejidos, a través de un amplio rango de contenidos de metales en suelos. En estas plantas la acumulación es superior en los órganos aéreos, por lo que el contenido metálico es mayor en tallos, ramas y hojas, con respecto a raíces y otros órganos de almacenamiento (Baker y Brooks, 1989; Baker y McGrath, 1994; Baker *et al.*, 1997).

CUADRO 1. Número de plantas hiperacumuladoras de metales, basado en los registros disponibles a Diciembre 1996

TABLE 1. Number of metal hyoeraccumulator plants, based on records available by December 1996

Metal	Criterio de definición % m.s. en hojas	Número de: Taxas	Familias
Cadmio	> 0,01	1	1
Cinc	> 1,00	18	5
Cobalto	> 0,10	26	12
Cobre	> 0,10	24	11
Manganeso	> 1,00	8	5
Níquel	> 0,10	> 300	35
Plomo	> 0,10	5	3

Fuente: Baker *et al.*, 1997.

MECANISMOS DE TOXICIDAD METÁLICA EN PLANTAS

A nivel celular, los procesos bioquímicos ocurren con una dinámica dentro de un equilibrio funcional u homeostasis celular; ello puede alterarse ante concentraciones excesivas de metales. Los mecanismos por los que se produce esta alteración y posible muerte celular, son poco conocidos aunque se sabe que la toxicidad metálica está relacionada, al menos, con los procesos que se detallan a continuación (González L., 1994).

Interacción con grupos funcionales de aminoácidos de proteínas

Metales pesados, como Cu, Cd, Hg y Pb, son fuertemente reactivos con grupos SH^-, histidil y carboxilato, presentes en cadenas laterales de aminoácidos de proteínas estructurales y enzimas. Estos grupos son esenciales para la actividad catalítica o para mantener la estructura de una determinada proteína, lo que puede ser alterado por oxidación o coordinación con un exceso de metal.

Formación de radicales libres y estrés oxidativo

Las células están expuestas siempre a un pequeño nivel basal de radicales libres (muy tóxicos por su fuerte capacidad oxidante), generados normalmente por la reacción de iones de metales (principalmente Fe y Cu) con peróxidos orgánicos e inorgánicos (H_2O_2), presentes normalmente en las células. Bajo normalidad, los radicales son controlados por un sistema antioxidante –compuesto por substancias exógenas, como Se, Mn y vitaminas C y E, y endógenas, como proteínas– que transforman los radicales libres en especies menos tóxicas.

Estas defensas pueden ser superadas ante un aumento de radicales libres, condición que se denomina **estrés oxidativo**, siendo la **lipoperoxidación** una de las manifestaciones principales. Se produce cuando un exceso de radicales libres, generados por un exceso de iones metálicos, reacciona con los ácidos grasos poli-insaturados de las membranas, alterarando las propiedades estructurales y funcionales de éstas, perdiéndose la homeostasis celular. En *Silene cobrecubalus*, la toxicidad de Cu se manifiesta por una liberación de K^+ intracelular y aumento de lipoperoxidación en las raíces.

Detrimento de defensas antioxidantes

Mecanismo adicional al de la lipoperoxidación, por el cuál los metales contribuyen a aumentar el estrés oxidativo. Se sabe que, a concentraciones micromolares, el Cd, Hg y Pb son fuertes inhibidores de la enzima Glutatión-peroxidasa, un activo componente del sistema detoxificador de substancias precursoras de radicales libres.

MECANISMOS DE TOLERANCIA VEGETAL A METALES

Si bien se desconoce gran parte del origen de la tolerancia vegetal al estrés metálico, se sabe que –al igual que el estrés causado por otros factores– los variados mecanismos celulares de tolerancia metálica –detonados ante excesos metálicos– tienen una base genética. Las plantas tolerantes pueden contar con diversos mecanismos, en función del metal, a diferencia de los animales que tienden a protegerse emigrando de zonas inhóspitas; posiblemente, esta incapacidad de traslación vegetal se contrarresta con una mayor capacidad fisiológica de protección (González L., 1994).

Tolerancia por exclusión

Existen mecanismos, con base en las membranas plasmáticas, cuyo resultado es impedir el ingreso de exceso de metal a la célula. En *Silene cobrecubalus*, membranas de raíces de plantas tolerantes y sensibles al Cu presentan similar susceptibilidad *in vitro* a compuestos químicos que inducen lipoperoxidación; sin embargo, a igual concentración de Cu externo, la toxicidad es mínima en las tolerantes pues absorben menos Cu que las sensibles. Así, la tolerancia se relacionaría con la capacidad de prevenir los daños inducidos por Cu en la membrana plasmática, posiblemente vía alteraciones en las regiones de ésta que favorecen la exclusión del metal y que normalmente participan en su absorción.

Otro mecanismo que involucra a la membrana plasmática, es la exclusión de metales por alteración del pH en la vecindad de las raíces. En cultivares de *Triticum aestivum*, se ha encontrado en una estrecha correlación entre resistencia al Al^{+3} y aumento de pH en el medio circundante. Aumentos de pH disminuyen la solubilidad del Al, que precipita como hidróxido, limitándose su absorción por las raíces.

La alcalinización se relacionaría con un mayor consumo de NO_3^- en los trigos tolerantes, que sería compensado por un eflujo de OH^-, lo que aumentaría el pH externo. Esto explicaría porqué raíces tratadas con inhibidores de ATP, presentan una estimulación al consumo de Al^{3+}, pues el de NO_3^- requiere energía, posiblemente a través de la enzima ATP-asa. Sin embargo, no se tiene certeza del mecanismo por el cual la presencia de Al aumenta el consumo de NO_3^- en plantas resistentes, ni menos si el eflujo de OH^- está acoplado al mismo sistema de incorporación de NO_3^-.

Tolerancia por acumulación y detoxificación interna

Algunas plantas tolerantes tienen la capacidad de inactivar el exceso de metales en el ambiente intracelular o las especies radicalarias generadas por éstos, a través de la detonación de alguno de los siguientes mecanismos bioquímicos.

Inducción de defensas antioxidantes. El Cu y otros metales pueden generar un estado de estrés oxidativo celular, controlado a través de la formación de superóxido-dismutasa (**SOD**), una enzima del sistema antioxidante que neutraliza especies radicalarias. En raíces de *Glycine max*, expuestas a Cu^{+2}, se induce una variedad de proteínas, una de ellas identificada como una SOD citosólica. De hecho, raíces tratadas con Cu^{2+} o Al^{3+} presentan más del doble de actividad SOD y peroxidasa, otra enzima antioxidante, que otras no expuestas.

En levaduras, el Cu es capaz de corregular la expresión del gen de la SOD y de la metalotioneína (MT), a través de la interacción del metal con una proteína que participa en la transcripción de ambos genes; por ello, se postula que la acumulación de SOD en raíces expuestas a Cu se debe a una síntesis **de novo** de la enzima y que tal inducción es una respuesta específica para neutralizar la toxicidad del metal.

Inducción de formación de prolina (PRO). La PRO es un aminoácido que se acumula en plantas en respuesta a condiciones de estrés (hídrico, térmico, salino). Hace poco, se comprobó la acumulación de PRO en raíces y tallos de cultivares de *Triticum aestivum*, en proporción a la exposición de Cd, Zn, Co, Cu o Pb. Cd y Cu son los más potentes inductores y, a la vez, los más efectivos en inhibir el crecimiento de raíces y tallos, y aumentar la degradación de clorofila.

Se desconoce si la acumulación de PRO es por una mayor síntesis o menor utilización, así como su posible papel protector en plantas estresadas, pero experimentos *in vitro* han demostrado su efectividad en inhibir la destrucción de proteínas y en actuar como potente atrapador de radicales libres generados química o enzimáticamente.

La PRO actuaría, también, como regulador de la acidez citosólica, alterada durante el estrés metálico. Plantas estresadas presentan menor actividad del sistema de transporte de electrones, aumentando la razón de especies reducidas NADH y H^+/ NAD^+, y favoreciendo la acumulación de ácidos orgánicos, como cítrico, málico y láctico, con la consiguiente acidificación del citoplasma. Así, la síntesis de PRO representaría un mecanismo adaptativo para reducir la acumulación de NADH y la acidez del citoplasma (cada molécula de PRO sintetizada agota 2 NADH y 2 H^+).

Sin embargo, dado que es probable que la acumulación de ácidos orgánicos actúe como otro mecanismo de tolerancia a metales, se piensa que la acumulación de PRO sirve más para proteger a proteínas y membranas del daño estructural ocasionado por la interacción con metales o bien, para atrapar las especies radicalarias generadas por los mismos.

Síntesis de ácidos orgánicos y compartimentalización vacuolar. Al acomplejar metales, ácidos como el cítrico, málico y malónico, han sido relacionados con tolerancia a metales pesados. Esta hipótesis se basa en que plantas tolerantes a Zn y Ni, presentan altos contenidos de estos ácidos. Sin embargo, es difícil determinar si esta correlación es parte de algún mecanismo de tolerancia o bien una consecuencia de la toxicidad de los metales sobre la acidez del citoplasma (ver PRO).

Los ácidos orgánicos, además de inactivar metales en complejos, podrían transportar metales desde el citoplasma a la vacuola, donde el ácido sería devuelto al citoplasma y el metal contenido en complejos inactivos. Se ha detectado tales complejos vacuolares en plantas expuestas a Cd y Zn, por lo que se ha sugerido que la tolerancia metálica se debería a la mayor capacidad de transporte de metales a la vacuola.

Sin embargo, así como plantas tolerantes a Zn de *Agrostis capillaris* y *Silene vulgaris* presentan altos niveles de malato y sólo toleran levemente Ni, plantas tolerantes a Ni de *Alyssum bertolonii*, ricas en malato, no toleran Zn. Esto sugiere que la base bioquímica de estas tolerancias podría radicar en cambios específicos del sistema de transporte a la vacuola del complejo metálico o en el tonoplasto mismo, más que a un mero incremento en la concentración de ácidos orgánicos quelantes.

Formación de metalotioneínas (MT). En plantas, se ha aislado secuencias génicas similares a las de los genes de MT en animales. La secuencia de aminoácidos demuestra que estos genes codificarían proteínas con dominios ricos en cisteína, capaces de unir metales. Uno de éstos, el PsMTa (expresado en *Echerichia coli*) aumentó la capacidad de acumular Cd y Cu en las células con el gen. Hoy, sólo una proteína aislada de tejido vegetal presenta características de MT: la llamada proteína Ec de trigo, que presenta regiones ricas en cisteína, responsable de la unión de 5 átomos de Zn.

Pero, la proteína Ec no es inducida por Zn u otro metal y presenta una gran abundancia al inicio de la germinación, para luego decaer rápidamente durante el período de post-imbibición. Pareciera que la proteína Ec está relacionada con algún papel de regulación del desarrollo, por ejemplo como dador de Zn a enzimas sintetizadoras de ácidos nucleicos que requieren del metal para su actividad, en vez de un papel detoxificador de metales como en las MT de animales.

No obstante, en plantas de *Silene cobrecubalus* y *Mimulus gutattus* expuestas a Cu, se ha aislado polipéptidos asociados al metal, los que representan especies con características de MT, posiblemente derivadas de la expresión de los genes tipo-MT descritos arriba. Estos polipéptidos son inducidos por exposición a Cu, por lo cual podrían tener algún papel en la tolerancia metálica en estas plantas.

Formación de fitoquelatinas (FQ y H-FQ). Las fitoquelatinas (**FQ**) son polipéptidos compuestos de (g-glutamina-Cisteína)$_n$-glicina, donde n varía de 2 a 11 unidades dependiendo del organismo. Las FQ, a diferencia de las MT, no son codificadas genéticamente sino enzimáticamente a partir de la GSH; están en plantas y también en levaduras y hongos. En especies del Orden Fabales, se ha aislado homofitoquelatinas (**H-FQ**), donde la glicina es reemplazada por ß-Alanina.

Las FQ y H-FQ son inducidas por varios metales, como Pb, Cd, Zn, Sb, Ag, Ni, Hg, Cu, Sn, Au, Bi, Te, W, As y Se, pero sólo ha sido posible aislar complejos FQ-Cd, -Pb, -Zn y -Cu en cultivos celulares de *Raulvolfia serpentina*. En general, más del 80% de los iones Cu, Zn, Pb y Cd en los extractos crudos de *R. serpentina,* están asociados con FQ. En raíces de maíz expuestas a Cd, hasta el 95% del metal está asociado a FQ.

La síntesis de FQ es rápida (4 hr) y continúa incrementándose hasta 48 horas después de la exposición, siendo exclusiva sólo a metales y no a tratamientos de calor, frío, hormonas o estrés oxidativo (radiación UV, H_2O_2 y anoxia), lo cual indicaría que su principal función es detoxificar metales. La ca-

pacidad metálica de inducción de síntesis de FQ parece residir en la enzima FQ-sintetasa, tetrámero con un peso molecular de 25.000 en cada subunidad y activada sólo en presencia de metales como Cd, Ag, Bi, Pb, Zn, Cu, Hg y Au.

Otras experiencias indican que la GSH, FQ ó ambas tienen un papel en la detoxificación de metales, aunque las evidencias tienden a inclinarse preferencialmente por las FQ, las que parecieran estar además involucradas en el transporte y compartimentalización de metales en la vacuola.

A pesar de estas evidencias, las FQ no serían un mecanismo de tolerancia de todas las plantas ni a todos los metales. Plantas tolerantes al Cu de *Silene cobrecubalus* no sobreproducen FQ, aún a contenidos externos tóxicos para las plantas sensibles. A su vez, plantas sensibles a Cd y Zn de *Silene vulgaris* presentan mayor contenido de FQ inducido que las tolerantes. Células de un cultivar de tomate, seleccionado por su resistencia a Cd, presentan altos niveles de FQ, pero no toleran otros metales.

Estas observaciones contradictorias podrían indicar la existencia de mecanismos adicionales o distintos de FQ que operan en estos organismos para hacer frente al estrés metálico. En todo caso, estimulan a investigar en el tema pues existe amplio consenso que las FQ (y también las MT) son uno de los pocos ejemplos en la biología del estrés en plantas, considerados una verdadera respuesta adaptativa para la tolerancia al estrés por metales y no simplemente un síntoma de una respuesta no específica.

Tolerancia por excreción

Existen algunos otros mecanismos de inactivación del exceso metálico, al interior de las células, por los cuales éste es eliminado por alguna secreción interna.

Costo de la tolerancia

La tolerancia vegetal al estrés metálico tiene implicaciones genéticas, ya que los mecanismos son atributos heredables de un mutante tolerante o genotipo. Sin embargo, el costo de la tolerancia es alto y se manifiesta en términos de una menor adaptación de las plantas tolerantes bajo condición de normalidad; también, se ha sugerido que la menor tasa de crecimiento y de producción de biomasa de muchas plantas tolerantes, comparadas con sus contrapartes sensibles, son el corolario del gasto de energía para la operación de los mecanismos de tolerancia involucrados (Baker, 1987).

Posiblemente, la baja expresión biomásica de las plantas acumuladoras, en especial las hiperacumuladoras, es una limitante a su uso en programas de rehabilitación de suelos con contenidos metálicos anómalos (Baker, 1987; Baker y Brooks, 1989; Baker y McGrath, 1994). Debido a su alto potencial de extraer contenidos importantes de metales desde las capas superiores de los suelos, el uso de estas plantas en programas de rehabilitación debería pasar por su incorporación en programas de mejoramiento genético, a objeto de aumentar la expresión biomásica y de multiplicar semillas.

RESUMEN

Los metales pueden llegar a ser tóxicos para los vegetales, lo que se debe a su capacidad de detonar mecanismos fisiológicos específicos, que pueden conducir a la muerte de las plantas. En cantidades excesivas, los metales son capaces de **interactuar con grupos funcionales de aminoácidos**, haciendo perder la estabilidad de las proteínas, de **inducir la formación de radicales libres**, muy tóxicos por su fuerte capacidad oxidante (la liporeoxidación, como una de las manifestaciones importantes), y de **alterar el sistema de defensas antioxidantes**.

No obstante, algunas plantas tienen una capacidad –genéticamente regulada– de tolerar el exceso metálico y vivir normalmente bajo una condición de estrés metálico. Esta tolerancia al estrés metálico se debe a una serie de mecanismos fisiológicos, detonados por el estrés metálico, entre los que se cuenta:

- la **exclusión**, esto es, la existencia de una barrera fisiológica que impide la absorción excesiva de metales manteniéndose normal la concentración intra-celular aún en condiciones de estrés metálico; ello puede ocurrir por bloqueo radicular o alcalinización del medio circundante a la raíces,
- la **acumulación y detoxificación interna**, que significa la neutralización del exceso de metal a nivel intra-celular, gracias a la *inducción de defensas antioxidantes* (que neutralizan el exceso de especies radicalarias y *de formación de prolina* (aminoácido que se acumula en plantas en respuesta a variadas condiciones de estrés), *síntesis de ácidos orgánicos y compartimentalización vacuolar* (por el cuál el metal es transportado a la vacuola donde se inactiva), *formación de metalotioneínas* (aminoácidos con regiones de cisteína, que también se sintetizan en ani-

males expuestos a estrés metálico y que poseen capacidad de complejar metales; esta síntesis tiene una base genética), y *formación de fitoquelatinas* (polipéptidos que se sintetizan en respuesta a condiciones de estrés metálico y que están codificadas enzimáticamente), y

- la **excreción**, conjunto de mecanismos que permite a las plantas excretar el exceso metálico, que ha sido previamente absorbido.

Palabras claves: Estrés metálico, metales pesados, lipoperoxidación, prolina, fitoquelatinas, metalotioneínas.

LITERATURA CITADA

ALLOWAY, B.J. 1994a. Introduction. En: Alloway, B.J. (ed.). Heavy metals in soils. 2ª ed. Londres, Blackie Academic and Professional. p.: 3-10.

ALLOWAY, B. 1994b. The origins of heavy metals in soils. En: Alloway, B.J. (ed.). Heavy metals in soils. 2ª ed. Londres, Blackie Academic and Professional. p.: 38-57.

BAKER, A.J.M. 1987. Metal tolerance. New Phytologist 106 (suppl.): 93-111.

BAKER, A.J.M. and BROOKS, R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: a review on distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.

BAKER, A.J.M. and McGRATH, S.P. 1994. A strategy for the recovery of soils contaminated with heavy metals using hyperaccumulator plants. En: González M., S.P. (ed.). Impacto Ambiental de Metales Pesados en Chile (VI Simposio sobre Contaminación Ambiental). INIA-U. de Chile-INACAP-British Council, Santiago. p.: 126-136.

BAKER, A.J.M. and WALKER, P.L. 1989. Physiological responses of plants to heavy metals and the quantitation of tolerance and toxicity. Chemical Speciation and Bioavailaibility 1(1): 7-17.

BAKER, A.J.M.; REEVES, R.D. and SMITH, J.A.C. 1997. Metal accumulator plants: a review of the biological resource and its possible exploitation in the phytoremediation of metal-polluted soils. En: Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements (23-26 June 1996), University of California at Berkeley. Extended Abstracts: 621-622.

DAJOZ, R. 1979. Tratado de Ecología. 2ª ed. Versión española de J.E. Hernández Bermejo. Madrid, Ed. Mundi-Prensa. p.: 27-28.

GONZÁLEZ L., L.F. 1994. Bioquímica de las respuestas al estrés por metales en plantas y animales. En: González M., S.P. (ed.). Impacto Ambiental de Metales Pesados en Chile (VI Simposio sobre Contaminación Ambiental). INIA-U. de Chile-INACAP-British Council, Santiago. p.: 45-62.

GONZÁLEZ M., S.P. 1991. Upper critical level of copper for alfalfa in ten Chilean soils. Water, Air, and Soil Pollution 57-58:201-208.

GONZÁLEZ M., S.P. 1994a. Geoquímica de metales pesados en Chile. En: González M., S.P. (ed.). Impacto Ambiental de Metales Pesados en Chile (VI Simposio sobre Conta-minación Ambiental). INIA-U. de Chile-INACAP-British Council, Santiago. p:10-29.

GONZÁLEZ M., S.P. 1994b. Capítulo 11. Estado de la contaminación de suelos en Chile. En: Espinoza, G. *et al* (eds.). Perfil Ambiental de Chile. CONAMA, Secretaría Técnica, Santiago. p.: 199-234.

INIA. 1990. Contaminación por residuos de plaguicidas y metales pesados en áreas agrícolas entre las regiones III y XI. Informe Final. CRI La Platina, Santiago. (Circulación restringida).

KABATA-PENDIAS, A. and PENDIAS, H. 1984. Trace elements in soils and plantas. Boca Raton, Fla, CRC Press. 315 p.

MENGEL, K and KIRBY, E.A. 1987. Principles of plant nutrition. International Potash Institute, Berna.

TAIZ, L. and ZEIGER, E.. 1991. Plant Physiology. Cummings Publishing Co., Inc., Reedwood City, California. 559 p.