

RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LA CONTAMINACION POR METALES PESADOS

J. Barceló y Ch. Poschenrieder

*Laboratorio de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias.
Universidad Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.*

RESUMEN

Se debate el carácter crítico de los términos “metal pesado” y “estrés”, la importancia de las relaciones en el entorno medio ambiente/planta, la pluralidad de los mecanismos de respuesta de las plantas frente a la toxicidad por metales pesados, los posibles niveles y secuencias de acción primaria y secundaria, y el papel de la compartimentación intercelular, celular y subcelular en los mecanismos de respuesta de las plantas. Se discuten los mecanismos de resistencia o tolerancia que pueden desarrollar algunas plantas con valor adaptivo frente a la toxicidad para el metal.

Palabras clave: Metal. Planta. Tolerancia. Toxicidad.

SUMMARY

PLANT RESPONSES TO HEAVY METAL CONTAMINATION

After a short introduction considering the terms “heavy metal” and “stress”, the importance of the relationship environment/plant, the mechanisms of plant responses to heavy metal stress, and the possible levels and sequences of primary and secondary responses are discussed. The role of metal compartmentation at the intercellular, cellular and subcellular level in the response mechanisms of plants and the mechanisms of resistance or tolerance developed by certain plants adapted to toxic levels of metals are discussed.

Key words: Metal. Plant. Tolerance. Toxicity.

INTRODUCCION

El término “metal pesado” suele definirse como metales cuyo peso específico supera a 5 g cm^{-3} o que tienen un número atómico por encima de 20 (Barceló y Poschenrieder, 1990; Breckle, 1991). No obstante, dicha definición es algo convencional y, sobre todo, poco uniforme cuando

Parte de nuestro trabajo experimental utilizado en esta revisión ha sido financiada por CAICYT PB 85-0010 y DGICYT PB 88-0234.

se consideran sus propiedades físico-químicas y sus funciones biológicas. Así, desde el punto de vista de los sistemas vivos, entre los metales pesados hay nutrientes esenciales (Fe, Mn, Zn, Cu y Mo), elementos beneficiosos bajo ciertas circunstancias (Ni, Cr, V, Ti, etc.) y elementos que, hoy por hoy, no se considera que tengan funciones en los seres vivos (Cd, Hg, Pb, Tc, etc.) (Barceló y Poschenrieder, 1989).

De aquí el valor crítico de dicha definición y las razones y amplitud de discordancia a la hora de interpretarla, que van desde la no aceptación del término (Nieboer y Richardson, 1980) y su sustitución por otros ("elemento traza", "metal traza") (Phipps, 1981) al establecimiento de una clasificación que relaciona los mecanismos de toxicidad con la tendencia química de estos metales a formar complejos con diversos ligandos (Nieboer y Richardson, 1980). No obstante, tal como puntualiza

Tiller (1989), el término metal pesado puede ser una denominación globalizadora, útil para los metales clasificados como polucionantes ambientales. En este artículo usaremos el término en este sentido incluyendo así al aluminio que, si bien no es "pesado", si que juega un importante papel como metal tóxico en ambientes ácidos (Sigel y Sigel, 1988).

También estrechamente ligado a este artículo está el término de "estrés". Seyle (1973) estableció, por primera vez en 1936, el carácter dinámico del síndrome general del estrés para el caso del hombre. Lo definió como un estado de "tensión" del organismo y distinguió entre reacciones específicas e inespecíficas del factor de estrés. De especial interés en esta visión es el enfoque en los cambios de respuesta al considerar el comportamiento del organismo respecto al factor de estrés o sobrecarga. Tras una fase de alarma,

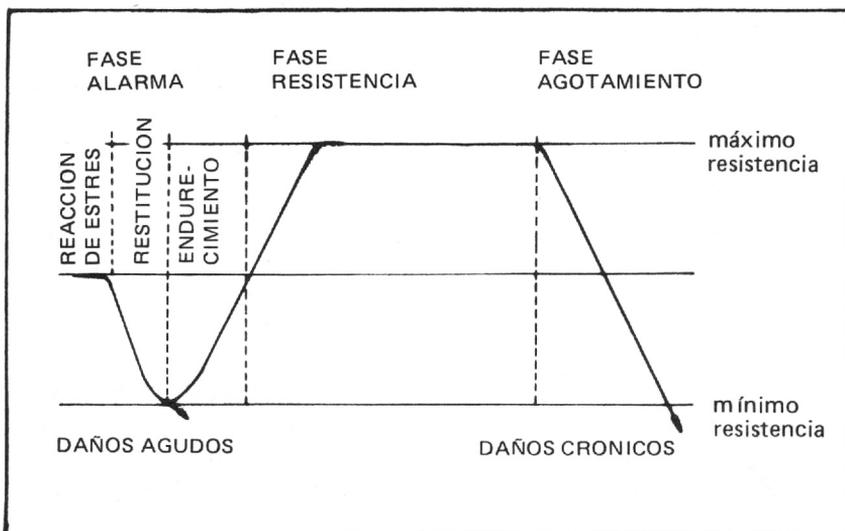


FIG. 1.—Fases de respuesta a estrés en plantas. (Según Larcher, 1987).

que produce la reacción al estrés, se inicia un período de restitución que puede llevar a una fase de resistencia. Esta puede culminar en una fase de agotamiento en los casos de lesiones crónicas (Fig. 1).

Como vemos, en este concepto está implícito el carácter de sobrecarga del factor de estrés y el estado de respuesta o tensión que genera en el organismo. Modernamente se tiende a ver el estrés, con carácter general, como cualquier situación que se aparta de la situación óptima y que genera así una cadena de respuestas, positivas y negativas, en el organismo. Estas respuestas pueden tener diferente grado adaptivo, según el factor desencadenante y las características genéticas y fenotípicas de la especie y variedad.

Si nos referimos específicamente a las plantas, desde los años 1970 ha avanzado especialmente este campo de estudio. Punto clave de la evolución del concepto y enfoque del estrés en las plantas han sido la obra meritoria de Levitt (1980), al equiparar la planta con un sistema físico que permite al análisis cualitativo y cuantitativo de las respuestas y, más recientemente, el enfoque ecofisiológico de Larcher (1987) y otros autores. En la terminología de Levitt "stress" y "strain" (estrés y tensión) son los términos integrantes del modelo que define el grado de resistencia y que representan, respectivamente, los parámetros y naturaleza del factor desencadenante y la reacción que provocan en el interior del sistema.

RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LA TOXICIDAD POR METALES PESADOS: ALTERACIONES ESTRUCTURALES, FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

La heterogeneidad química de los metales pesados y los distintos grados de afinidad en relación con los ligandos con oxígeno (elementos de la "clase A"), con N o S (elementos de la "clase B") o con ambos (elemento de la clase "borderline") (Nieboer y Richardson, 1980) explica las funciones y acciones biológicas tan dispares de estos elementos e incluso la diversificación entre elementos esenciales y no esenciales para las plantas.

A la hora de considerar las acciones fisiológicas hay una serie de puntos clave a tener en cuenta:

a) Mecanismos de absorción, transporte y acumulación de los metales por la planta.

b) Mecanismos primarios de su toxicidad a nivel molecular, celular y subcelular.

c) Mecanismos secundarios de interferencia con los procesos funcionales de las plantas.

d) Mecanismos de respuesta homeostática que, en algunos casos, conducen a

e) Mecanismos de resistencia frente al metal pesado.

a) *Mecanismos de absorción, transporte y acumulación*

La Tabla 1 muestra la diversidad de concentraciones, referida a algunos elementos metálicos, en el sistema suelo/planta. Es de destacar que

TABLA 1

Concentración de algunos metales en suelos y plantas.

Concentración en:	Cadmio	Zinc	Cromo	Plomo	Cobre
Suelo normal (mg kg ⁻¹)	0,4	40	50	14	30
Suelo metalífero (%)	≤0,035	≤15	≤5	≤5	≤5
En planta normal parte aérea (mg kg ⁻¹).	0,05 - 0,7	25 - 150	0,1 - 5	5 - 10	5 - 20
Concentración tóxica crítica en parte aérea de una planta normal (mg kg ⁻¹).	5 - 30	100 - 400	5 - 30	30 - 300	20 - 100
Planta acumuladora* sobre suelo metalífero (mg kg ⁻¹)	≤560	≤25000	≤20000	≤11395	≤13700

* Concentraciones correspondientes a partes aéreas de *Thlaspi alpestre* para el Cd y Zn, de *Leptospermum scoparium* para el Cr, de *Minuartia verna* para el Pb y de *Aeolanthus rosatifolius* para Cu. (Tomado de Barceló, 1991).

esta diversidad afecta tanto al tipo de suelo (metalífero o no) como a las concentraciones respectivas en suelo y en planta (parte aérea) normal o sometida a concentración crítica tóxica. También la Tabla 1 muestra la existencia de especies que crecen sobre suelos metalíferos que toleran la acumulación de altas concentraciones de metal, en fuerte contraste con los contenidos y límites de toxicidad de las plantas de suelos normales. Lógicamente, el tipo y composición del suelo, las características de las sustancias orgánicas e inorgánicas y su poder quelante, el valor y márgenes de pH, el estado redox y la especiación química, así como las interacciones suelo/planta de la rizosfera (Marschner, 1990) ocupan un lugar central en las relaciones de disponibilidad, toxicidad y respuestas de las plantas al estrés por metales.

En la contaminación por metales pesados no sólo del suelo sino también de muchas plantas acuáticas y, en parte, en la de procedencia atmosférica, la raíz es el principal órgano de absorción. Todavía hay bastante incertidumbre sobre la especificidad de los mecanismos de absorción, sobre todo si se refiere al caso de los elementos no esenciales. No obstante, la interacción con las ATPasas y la modificación de las propiedades de semipermeabilidad de las membranas y del balance iónico se considera que son factores importantes.

No todos los órganos de la planta tienen la misma significación en la acumulación de los metales pesados. Normalmente, la raíz es el órgano prioritario de entrada y de acumulación. Más excepcionalmente, como

es el caso del Tc, predomina, por el contrario, su acumulación en la parte aérea, habitualmente en las hojas. En muchas especies y variedades, se ha comprobado una fina compartimentación subcelular, especialmente en vacuola y pared celular (Vázquez *et al.*, 1992). En todo caso en la raíz hay un transporte radial que se sugiere que fundamentalmente es apoplástico y que encuentra un primer filtro importante de difusión y de regulación en la endodermis (Paivöke, 1983; Vázquez, *et al.*, 1987). Ya en la estela, los metales siguen esencialmente la vía del xilema y en sus relaciones con las células vecinas pueden inducir cambios en la pauta de diferenciación del propio sistema vascular hasta que, en concentraciones menores (conforme se ha matizado antes), alcanzan las hojas y alteran fuertemente la estructura y la funcionalidad de las células fotosintéticas (Van Assche *et al.*, 1990).

b) *Mecanismos primarios de toxicidad a nivel molecular, celular y subcelular*

La estructura y propiedades de las células vegetales son muy distintivas. Externamente están protegidas por la pared celular que suministra la trama reguladora del crecimiento en extensión y está dotada de sistemas defensivos y metabólicos propios, y interiormente, en el estado diferenciado dispone de un gran espacio extracitosólico que, limitado por el tonoplasto, forma la vacuola. Ambas estructuras, a su vez son básicas para la compartimentación, regulación osmótica celular y los procesos de ajuste osmótico. A su vez, los cloroplastos, con su activo metabo-

esta diversidad afecta tanto al tipo de suelo (metalífero o no) como a las concentraciones respectivas en suelo y en planta (parte aérea) normal o sometida a concentración crítica tóxica. También la Tabla 1 muestra la existencia de especies que crecen sobre suelos metalíferos que toleran la acumulación de altas concentraciones de metal, en fuerte contraste con los contenidos y límites de toxicidad de las plantas de suelos normales. Lógicamente, el tipo y composición del suelo, las características de las sustancias orgánicas e inorgánicas y su poder quelante, el valor y márgenes de pH, el estado redox y la especiación química, así como las interacciones suelo/planta de la rizosfera (Marschner, 1990) ocupan un lugar central en las relaciones de disponibilidad, toxicidad y respuestas de las plantas al estrés por metales.

En la contaminación por metales pesados no sólo del suelo sino también de muchas plantas acuáticas y, en parte, en la de procedencia atmosférica, la raíz es el principal órgano de absorción. Todavía hay bastante incertidumbre sobre la especificidad de los mecanismos de absorción, sobre todo si se refiere al caso de los elementos no esenciales. No obstante, la interacción con las ATPasas y la modificación de las propiedades de semipermeabilidad de las membranas y del balance iónico se considera que son factores importantes.

No todos los órganos de la planta tienen la misma significación en la acumulación de los metales pesados. Normalmente, la raíz es el órgano prioritario de entrada y de acumulación. Más excepcionalmente, como

es el caso del Tc, predomina, por el contrario, su acumulación en la parte aérea, habitualmente en las hojas. En muchas especies y variedades, se ha comprobado una fina compartimentación subcelular, especialmente en vacuola y pared celular (Vázquez *et al.*, 1992). En todo caso en la raíz hay un transporte radial que se sugiere que fundamentalmente es apoplástico y que encuentra un primer filtro importante de difusión y de regulación en la endodermis (Paivöke, 1983; Vázquez, *et al.*, 1987). Ya en la estela, los metales siguen esencialmente la vía del xilema y en sus relaciones con las células vecinas pueden inducir cambios en la pauta de diferenciación del propio sistema vascular hasta que, en concentraciones menores (conforme se ha matizado antes), alcanzan las hojas y alteran fuertemente la estructura y la funcionalidad de las células fotosintéticas (Van Assche *et al.*, 1990).

b) *Mecanismos primarios de toxicidad a nivel molecular, celular y subcelular*

La estructura y propiedades de las células vegetales son muy distintivas. Externamente están protegidas por la pared celular que suministra la trama reguladora del crecimiento en extensión y está dotada de sistemas defensivos y metabólicos propios, y interiormente, en el estado diferenciado dispone de un gran espacio extracitosólico que, limitado por el tonoplasto, forma la vacuola. Ambas estructuras, a su vez son básicas para la compartimentación, regulación osmótica celular y los procesos de ajuste osmótico. A su vez, los cloroplastos, con su activo metabo-

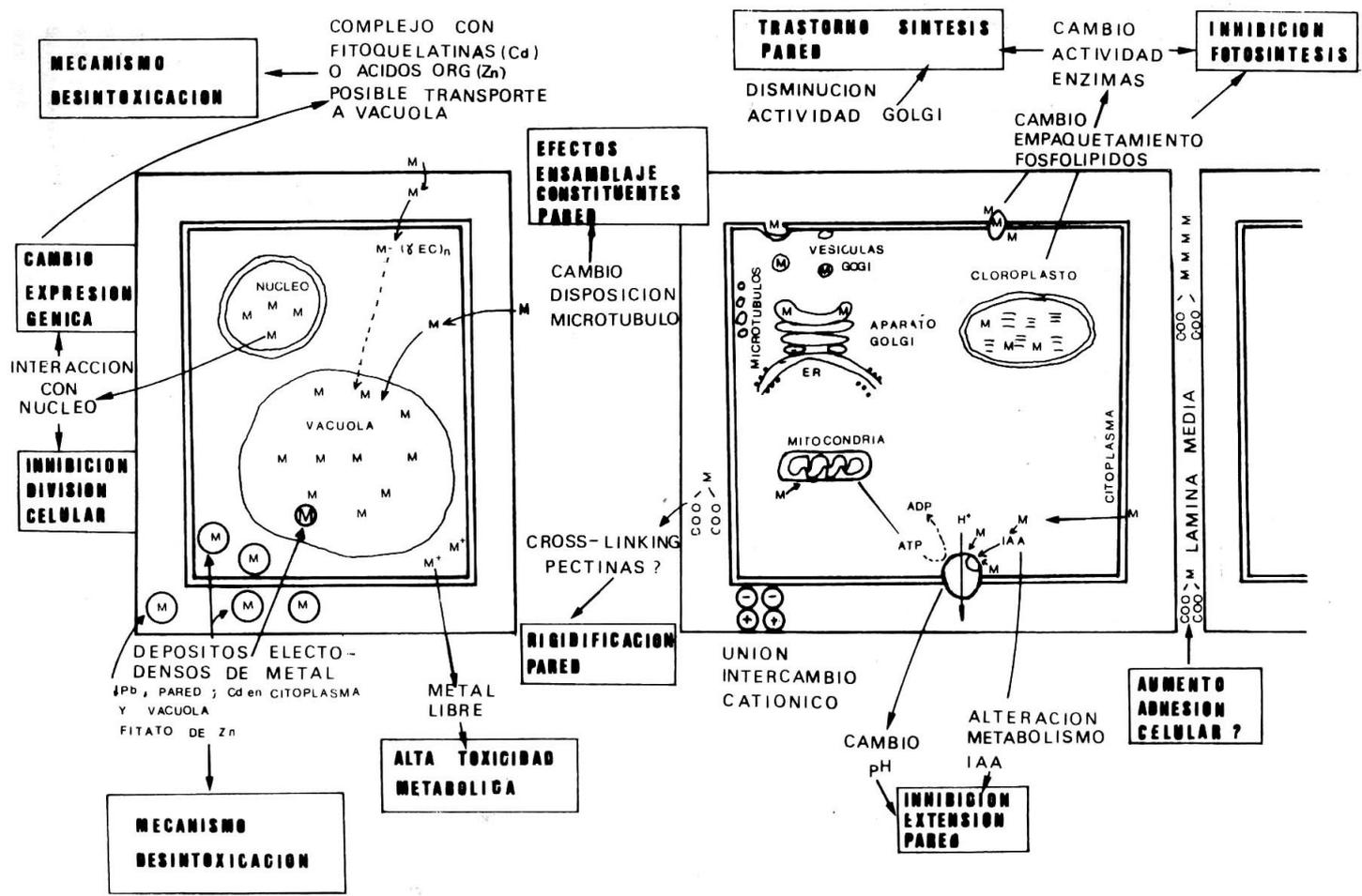


FIG. 2.—Efectos tóxicos y respuestas adaptativas de células vegetales frente al exceso de metales pesados.

lismo fotoautótrofo y dotación genética semiautónoma, constituyen el orgánulo más distintivo de la biosíntesis celular de las plantas y su verdadero centro metabólico.

Las características de ión metálico con carga y la gran variabilidad de estados de oxidación-reducción que muestran muchos metales pesados unido a su tendencia a formar complejos estables con ligandos orgánicos inducen a pensar que, potencialmente, la célula puede presentar numerosos lugares de acción primaria. Las membranas y el núcleo son seguramente puntos clave, aunque no debemos olvidar las interacciones sobre la estructura y propiedades de la pared celular.

En el conocimiento científico actual, la estructura y función de las membranas (Larsson y Moller, 1990) muestran una fina ordenación molecular capaz de captar selectivamente unas sustancias respecto a otras; de recibir, transducir y amplificar señales; de regular vectorialmente el flujo y la concentración de las diversas sustancias por medio de sistemas de bombas y transportadores; de disponer de canales iónicos específicos con "puertas" de regulación fisiológica del flujo y de poseer una compleja ordenación de potenciales de membrana, entre otras características.

La figura 2 muestra un esquema de células vegetales y los distintos niveles de acción y de respuesta que pueden provocar los metales pesados. En el plasmalenna destaca la interacción con las ATPasas translocadoras de H^+ y el cambio en el empaquetamiento de los fosfolípidos (Lindberg y Wingstrad, 1985). La pared celular puede incrementar su rigidez a causa

probablemente de trastornos enzimáticos en la biosíntesis de constituyentes de la pared, por cambios en el ensamblaje de los polímeros de la pared, por cambio de disposición de los microtúbulos o debido a un aumento de la adhesión celular de la lámina media. Las propiedades elásticas de las paredes celulares pueden verse también modificadas diferencialmente por los diversos metales (Barceló *et al.*, 1986a; 1986b; 1989). No obstante, estudios con coleoptilos de maíz indican que la reducción del crecimiento en extensión celular inducida por metales tóxicos primariamente no es debida a cambios en la extensibilidad de las paredes celulares (Gunsé *et al.*, 1992). La acción sobre el núcleo no parece tener igual importancia para todos los tipos de metales y, aunque pueda haber interacción con los ácidos nucleicos e inhibición de la división celular, los efectos sobre las membranas y la pared en ciertos casos parecen ser los más iniciales, mientras que la acción sobre el núcleo frecuentemente puede ser consecuencia del desajuste en las membranas y del desequilibrio en los efectores.

La figura 3 resume las principales posibilidades de toxicidad por exceso de metales pesados en la célula vegetal (Barceló, 1991). Se hace evidente la implicación de diferentes niveles y compartimentos celulares (membranas, pared celular, citosol, orgánulos) y la diversidad de enzimas y procesos que secundariamente serán alterados como consecuencia de la acción primaria de los metales pesados. Asimismo, normalmente se produce una fuerte distorsión en el sistema tilacoidal (Vázquez *et al.*,

EXCESO DE METALES

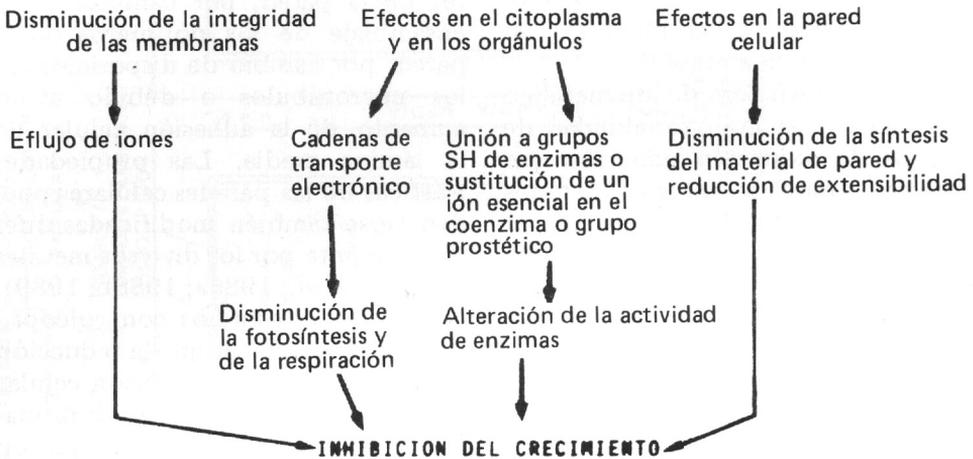


FIG. 3.—Efectos tóxicos primarios de metales pesados a nivel de membranas, citoplasma, orgánulos y pared que se relacionan con la disminución del crecimiento.

1987; 1990; Bennassar *et al.*, 1991) y en la organización de los fotosistemas que tiene fuertes implicaciones metabólicas y de reducción del crecimiento.

c) Mecanismos de interferencia con los procesos funcionales de las plantas

En planta entera, los síntomas más visibles de la fitotoxicidad por metales pesados incluyen característicamente una reducción del crecimiento, sobre todo en raíces, clorosis y necrosis en hojas y, posteriormente, síntomas típicos de senescencia y abscisión (Wallnöfer y Engelhardt, 1984; Vázquez *et al.*, 1989). El síntoma más característico de la toxicidad por metales pesados es la reducción del crecimiento radicular. Dado que las membranas y la pared celular son potencialmente el blanco de acción inicial que comporta

cambios en las propiedades de semipermeabilidad y de transporte, en un caso, y de extensibilidad y crecimiento en otro, se comprende la multiplicidad de procesos fisiológicos que secundariamente se verán modificados. El esquema de la figura 3 recoge algunos de los mecanismos implicados más importantes. Destaca, a nivel celular, la disminución de la integridad de las membranas que causa eflujo de iones (Foy *et al.*, 1978), sobre todo de K^+ , la disminución de la síntesis del material de la pared celular y la reducción de su extensibilidad y los efectos sobre el citosol y los orgánulos (cloroplastos, especialmente, y mitocondrias y aparato de Golgi). De especial interés son las acciones de los metales pesados sobre muchos enzimas que no muestran una única pauta específica de acción (Van Assche y Clijsters, 1990). Así, mientras que para un grupo clave de enzimas foto-

sintéticos, los metales inhiben su acción, en otros, relacionados con el metabolismo del estrés, actúan induciendo al enzima. El primer grupo incluye enzimas de la biosíntesis de clorofilas (ácido δ -aminolevulínico deshidratasa, protoclorofilida reductasa), de la cadena de transporte fotosintético de electrones y de la fotofosforilación (fotólisis de agua, NADPH-oxidoreductasa, ATPasa) (Becerril *et al.*, 1988; Clijsters y Van Assche, 1985; Palma *et al.*, 1986) y de la fijación fotosintética de CO_2 , sobre todo de RubisCo (Stiborova *et al.*, 1986) y PEP-carboxilasa (Iglesias y Andreo, 1984). Se supone que en unos casos el metal interacciona con grupos tiol ($-\text{SH}$) y en otros por sustitución de otros metales específicos para la acción. El segundo grupo, relacionado con el metabolismo del estrés, incluye la superóxido dismutasa (Elstner *et al.*, 1988; Palma *et al.*, 1986; 1987) para la que los diferentes autores han encontrado resultados distintos, de estímulo o de inhibición, según la forma considerada, y, más característicamente, se ha comprobado inducción enzimática en peroxidases, esterasas y diversos enzimas del metabolismo intermediario (Van Assche y Clijsters, 1990).

Consecuencia directa de estos cambios estructurales y metabólicos son las variaciones en la regulación del balance de distribución de los asimilados entre los diferentes órganos de las plantas y el fuerte desequilibrio que se crea en el balance de los nutrientes y en sus interacciones. Los desequilibrios entre los distintos elementos minerales, como consecuencia de la acción de los metales pesados, presentan también una gran

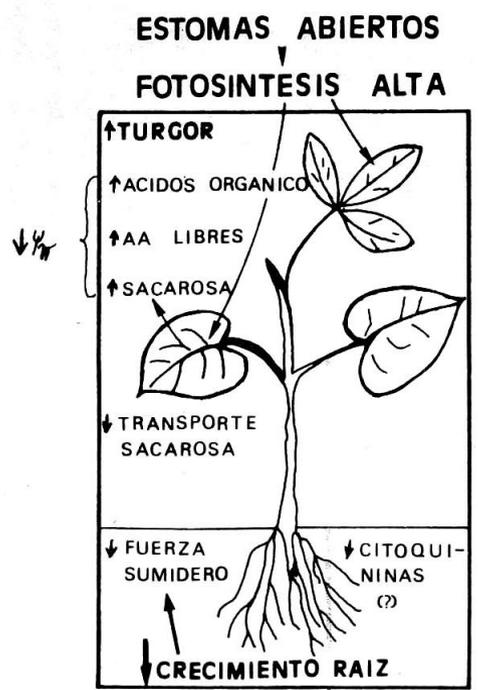
diversidad de modelos, con correlaciones tanto sinérgicas como antagónicas, según los elementos (Kabata-Pendias y Pendias, 1984).

d) *Mecanismo de respuesta homeostática*

Más allá de un punto o valor crítico de estrés pueden entrar en juego una serie de mecanismos metabólicos y hormonales en las plantas que tienden a contrarrestar la acción distorsionante de la toxicidad. Estos mecanismos homeostáticos son de diversa índole y pueden actuar a nivel celular e intercelular para una mejor integración de las funciones.

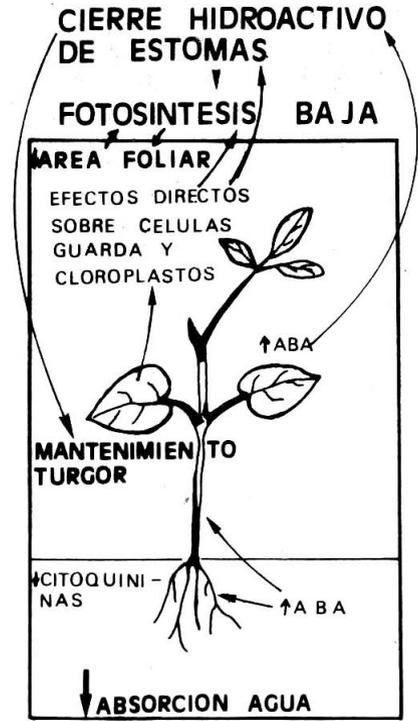
En el caso de los metales pesados la toxicidad, que normalmente se inicia en la raíz y que en concentraciones más bajas suele alcanzar a las hojas, se atenúa por mecanismos de compartimentación extracelular o extracitosólica o por mecanismos de secuestro e inactivación en el propio citosol. Muchas de las respuestas enzimáticas, sobre todo las consideradas en el apartado c como características del metabolismo de estrés, son también respuestas adaptivas que favorecen una protección inespecífica de los daños celulares causados por la toxicidad. Para el caso de las hormonas también hay indicios de respuestas intercelulares que tienen un valor adaptivo e integrador de las respuestas fotosintéticas y del balance hídrico frente a la toxicidad en la raíz. ABA, citoquininas, etileno y poliaminas son indicadores efectivos en muchas de estas interacciones (Poschenrieder *et al.*, 1989; Barceló y Creus, 1986). En este sentido también son de destacar las respuestas hormonales diferenciales respecto a metales di-

① CONCENTRACION BAJA DE METAL y/o EXPOSICION CORTA



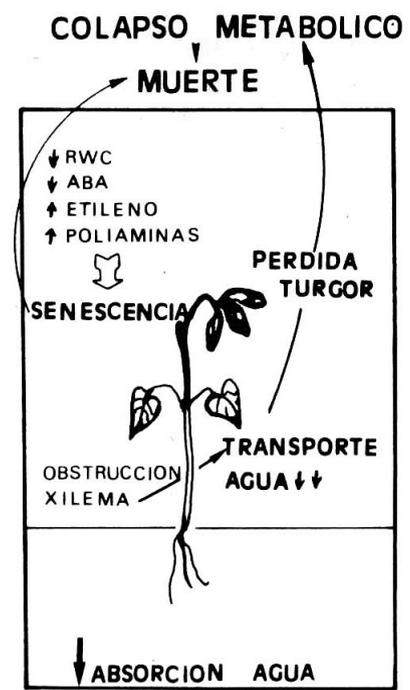
*RAIZ: POCO AFECTADA
*HOJAS: EFECTOS INDIRECTOS

② CONCENTRACION MAS ALTA DE METAL y/o EXPOSICION MAS LARGA



*RAIZ: MAS AFECTADA
*HOJAS: EFECTOS INDIRECTOS Y DIRECTOS

③ CONCENTRACION DE METAL MUY ALTA Y EXPOSICION LARGA



*RAIZ, TALLOS Y HOJAS
TOXICIDAD SEVERA
MUERTE

FIG. 4.—Relaciones hídricas, fotosíntesis y regulación del crecimiento en la planta sensible, Phaseolus vulgaris, en función de la concentración de Cd suministrada y el tiempo de exposición.

ferentes. En la figura 4 se muestra un esquema globalizador de estas diferentes posibilidades para el caso del Cd, tomando como modelo *Phaseolus vulgaris*, una especie sensible a este metal.

e) *Mecanismos de resistencia de las plantas a los metales pesados*

En la evolución de los mecanismos de resistencia o tolerancia de las plantas a los metales pesados pueden observarse muy diferentes grados de sensibilidad y de resistencia a la toxicidad de estos metales, tanto desde el punto de vista de los mecanismos como de la amplitud y distribución entre las diferentes especies, o, incluso, variedades o ecotipos dentro de una misma especie. Para estos estudios son de especial interés diversos enclaves mineros prácticamente intocados desde tiempos preterritos, pues permiten seguir el grado de selección y adaptación de la vegetación a lo largo del tiempo (Shaw, 1990). En el mismo sentido son útiles las minas, fundiciones o lugares de deposición de residuos abundantes, sometidos a regeneración natural.

Las metalofitas —plantas adaptadas a suelos ricos en metales pesados— son objeto de una atención particular, ya que su estudio puede aportar conocimientos sobre los mecanismos naturales de la adaptación de estas plantas al estrés químico por metales pesados.

En el caso de las plantas que han colonizado terrenos ricos en metales pesados durante miles de años se ha comprobado que conviven plantas endémicas con otras de procedencia externa. En unos casos se interpreta como paleoendemismos (especies relictas, antes de amplia

distribución y ahora restringidas a determinadas áreas) y en otros como neoendemismos (especies originadas en algunas áreas en respuesta a determinadas condiciones medioambientales (Baker, 1987).

Un hecho muy distintivo de como ha evolucionado la tolerancia de las plantas a los metales es que, en algunos casos, puede ser un proceso rápido (Baker *et al.*, 1990; Jackson *et al.*, 1990; Shaw, 1990; Tomsett y Thurman, 1988), lo que también abre aplicaciones prácticas.

La complejidad en el grado de resistencia y en los modelos de comportamiento de las plantas ante la toxicidad por los metales es indicativa de la diversidad de estrategias de protección que han desarrollado. Destacan primordialmente dos: 1) la planta evita o excluye al metal y 2) la planta tolera al metal. Asimismo también es conveniente distinguir entre las respuestas a plazo corto o aclimatación y las a largo plazo o adaptación (Alscher y Cumming, 1990).

Los principales mecanismos de resistencia o tolerancia que se han observado según los casos son:

- 1) Exclusión selectiva del metal del proceso de absorción.
- 2) Excreción del metal.
- 3) Excreción de compuestos por la raíz que en la rizosfera reducen la disponibilidad del metal para la planta.
- 4) Retención del metal en la raíz y/o vías de conducción.
- 5) Inmovilización del metal en la pared celular.
- 6) Inmovilización del metal en vacuolas.

- 7) Formación por la planta de compuestos secuestrantes e inactivadores de los metales tóxicos.
- 8) Tolerancia a los metales de los sistemas enzimáticos.

En el momento actual es difícil dar una pauta de la importancia relativa de cada uno de estos mecanismos en las plantas que muestran tolerancia a los metales pesados, puesto que está más bien ligado a particularidades dentro de una especie más que a mecanismos generales. En todo caso, mientras que algunas plantas presentan una gran plasticidad de respuesta fenotípica, en otros la tolerancia muestra claramente una base genética que parece que depende de varios genes con carácter aditivo y dominante, aunque también se han hallado casos de tolerancia ligada a un único gen (Blum, 1988; Clark, 1982; Ernst, 1976; Macnair, 1981; McClintock, 1984). Las primeras visiones consideraban que la tolerancia a un metal era específica y no confería a otro. Nuestro conocimiento actual ya es más complejo. En suelos contaminados con diferentes metales se ha comprobado que las plantas pueden presentar una tolerancia múltiple, aunque sólo en algunos casos se ha podido observar cotolerancia (tolerancia a un metal no presente inducido por otro presente). Cox y Hutchinson (1980) encontraron cotolerancia al Cu y Ni en *Deschampsia caespitosa* de Cadbury, en Canadá, y Allen y Sheppard (1971) al Zn y Pb en *Mimulus guttatus*, tolerante al Cu.

Especialmente crítica es todavía la función de las metaloproteínas y fitoquelatinas como mecanismos de defensa celular de las plantas frente

a la toxicidad por metales pesados. El descubrimiento de las metalotioneínas animales (Margoshes y Vallee, 1957) —proteínas de bajo peso molecular, ricas en cisteínas— con propiedades quelantes para los metales pesados, hizo pensar en la posible función protectora de este tipo de proteínas frente a la toxicidad interna de los metales pesados, también en el caso de las plantas. Pero no hay, por el momento, una aceptación general sobre su presencia y, sobre todo, su función. Más recientemente (Grill *et al.*, 1985; Rausser, 1990; Steffens, 1990) se ha descubierto la presencia en las plantas de unos péptidos más simples. Son las fitoquelatinas, cadistinas o poli (gamma-glutamilcisteinil) glicina. La diferencia más importante entre las fitoquelatinas y las típicas metalotioneínas estriba en la menor complejidad de las primeras y en la no aparente codificación genética, por lo que algunos autores las consideran metabolitos secundarios de las plantas. Tras una indecisión inicial, actualmente se las tiende a incluir en la clase III (metaltiolato-polipéptidos sintetizados sin traducción, en algunas levaduras, plantas superiores y algas eucariotas) dentro de las fitoquelatinas y, en general, las metalotieninas ofrecen un interesante campo de estudio de los aspectos moleculares de los mecanismos de defensa de las plantas y, en parte, explican la tolerancia interna que muestran algunas plantas a la toxicidad por determinados metales pesados (Rausser, 1990). Entre la diversidad de funciones en que pueden estar implicadas puede destacarse su posible participación en el trasvase citosol-vacuola del Cd (Robinson,

1990) y como intermediarias en el metabolismo de la reducción asimiladora del azufre en las plantas (Steffens *et al.*, 1986). Se ha atribuido a las fitoquelatinas un papel especialmente importante en la tolerancia frente al cadmio. Estudios por diversos autores han mostrado que la concentración de fitoquelatinas aumenta en respuesta a la absorción de cadmio, tanto en plantas no tolerantes como en plantas tolerantes, pero en estas últimas la síntesis de fitoquelatinas parece ocurrir más rápidamente y en mayor cantidad. No obstante, trabajos muy recientes indican que las fitoquelatinas no son, ni mucho menos, un mecanismo general de tolerancia frente a metales y que no parecen implicadas en los mecanismos de tolerancia frente al zinc (Davies *et al.*, 1991). Incluso en el caso de toxicidad por cadmio, el papel de las fitoquelatinas podría haberse sobrevalorado, tal como indican investigaciones recientes sobre la especiación de cadmio mediante simulación en computadora utilizando el programa GEOCHEM (Wang *et al.*, 1991). De acuerdo con los resultados obtenidos, en exposición a concentraciones bajas de Cd, tales como ocurren bajo condiciones de campo, el citrato sería el ligando principal del Cd en las vacuolas, mientras que la síntesis de péptidos ligandos del Cd sólo tendría importancia en caso de exposición a concentraciones muy elevadas del metal.

También para la tolerancia frente a otros metales (Zn y Al son los modelos más estudiados), cambios en el metabolismo de ciertos ácidos orgánicos (ácido málico, cítrico, isocítrico, oxálico, succínico, aconíti-

co, etc.) parecen jugar un papel importante, ya que debido a sus grupos carboxílicos forman complejos con los metales (Ernst, 1976). Sin embargo, una mayor capacidad de síntesis de ácidos orgánicos tampoco puede considerarse un mecanismo general y único de tolerancia frente a altas concentraciones de zinc o aluminio. Estudios recientes en plantas con tolerancia diferencial al Zinc sugieren un papel importante del fitato como ligando del Zn (van Steveninck *et al.*, 1990). En el caso del aluminio, además de mecanismos de desintoxicación interna mediante quelación, también deben considerarse mecanismos de exclusión del metal del protoplasto mediante inmovilización en la pared celular, cambios de pH en la rizosfera o permeabilidad selectiva de la membrana citoplasmática.

La importancia de la membrana citoplasmática en los mecanismos de tolerancia frente a la toxicidad por metales, ha sido reconocida también recientemente en el caso del cobre. Estudios con plantas de *Silene cucubalus* (de Vos *et al.*, 1991) y de *Mimulus guttatus* (Strange y MacNair, 1991) tolerantes al Cu indican que el mecanismo primario tanto de la toxicidad del Cu como de la tolerancia frente a este metal reside en el plasmalema. De acuerdo con sus resultados, la tolerancia frente al Cu en estas especies se basaría en un mecanismo de "avoidance" a nivel del plasmalema de las células radicales, y la quelación interna por péptidos del tipo fitoquelatinas no jugaría un papel como mecanismo primario de tolerancia.

Como punto final de esta revisión quisiéramos recalcar el enorme interés teórico y aplicado de este

tipo de estudios sobre el estrés ejercido en las plantas por los metales pesados. No parece haber un mecanismo específico general de acción, como variadas son las propiedades de los metales pesados. En todo caso, esta diversidad de acciones nos muestra la capacidad de respuesta de las plantas y una riqueza diversificada de estrategias de defensa, resistencia o tolerancia, muy variadas en sus mecanismos y en el grado de efectividad

y sensibilidad. Para avanzar en su conocimiento se requiere de nuevos enfoques, y con estudios a diferentes niveles (molecular, celular, fisiológico, bioquímico, genético, geobotánico y ecológico). Vemos así que las plantas, en razón de su fisiología abierta al medio ambiente y su gran flexibilidad adaptativa, son un laboratorio excepcional de experimentación de la contaminación por metales pesados.

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, W. R. and SHEPPARD, P. M., 1971. Copper tolerance in some Californian populations of the monkey flower, *Mimulus guttatus*. Proc. R. Soc. London, B 177: 177-196.
- ALSCHER, R. G. and CUMMING, J. R., 1990. Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimatation Mechanisms. Wiley-Liss, New York.
- BAKER, A. J. M., 1987. Metal tolerance. New Phytol 106 (Suppl.): 93-111.
- BAKER, A. J. M., EWART, K., HENDRY, G. A. F., THORPE, P. C. and WALKER, P. L., 1990. The evolutionary basis of cadmium tolerance in higher plants. 23-29. In: Environmental Contamination 1990 (J. Barceló, ed.), CEP Consultants Ltd., Edinburgh.
- BARCELO, J., 1991. Home-planta-medi ambient: una harmonia trencada (model d'estudi: planta-metalls pesants). Discurso de Ingreso como Académico Numerario de la Real Academia de Farmacia de Barcelona. Servicio de Publicaciones Universidad Autónoma de Barcelona.
- BARCELO, J. and CREUS, J. A. 1986. High and low toxicity of cadmium on polyamine metabolism of bush bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. Plant Physiol., Suppl. 80: 129.
- BARCELO, J. y POSCHENRIEDER, CH., 1989. Estrés vegetal inducido por metales pesados. Investigación y Ciencia 154: 54-63.
- BARCELO, J. and POSCHENRIEDER, CH., 1990. Plant water relations as affected by metal stress: a review. J. Plant Nutr., 13: 1-37.
- BARCELO, J., POSCHENRIEDER, CH. and GUNSE, B., 1986(a). Water relations in chromium-treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) under both normal water supply and water stress conditions. J. Exp. Bot. 37: 178-187.
- BARCELO, J., POSCHENRIEDER, CH. and GUNSE, B., 1989. Water relations and cell wall elasticity in cadmium treated bush bean plants. 55-65. In: Structural and Functional Responses to Environmental Stress. Water Shortage. (K. H. Kreeb, H. Richter & T. M. Hinckley, eds.) SPB Academic Publ., The Hague.
- BARCELO, J., VAZQUEZ, M. D. and POSCHENRIEDER, CH., 1988. Structural and ultrastructural disorders in cadmium-treated bush bean plants. New Phytol., 108: 37-49.
- BARCELO, J., POSCHENRIEDER, CH., ANDREU, I. and GUNSE, B., 1986(b). Cad-

- mium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Contender). I. Effects of Cd on water potential, relative water content and cell wall elasticity. *J. Plant. Physiol.* 125: 17-26.
- BECERRIL, J. M., MUÑOZ-RUEDA, A., APARICIO-TEJO, P. and GONZALEZ-MURUA, C., 1988. The effect of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne. *Plant Physiol. Biochem.* 26: 357-363.
- BENASSAR, A., VAZQUEZ, M. D., CABOT, C., POSCHENRIEDER, CH. and BARCELO, J., 1991. Technetium-99 toxicity in *Phaseolus vulgaris*: ultrastructural evidence for metabolic disorders. *Water Air Soil Poll.* 57-58: 681-690.
- BLUM, A., 1988. *Plant Breeding for Stress Environments* 133-162. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- BRECKLE, S., 1991. Growth under stress: heavy metals. In: *Plant Roots: the Hidden Half*. Y. Waisel, A. Eshel & U. Kafkafi, (Eds.) 351-373, Marcel Dekker, Inc., New York.
- CLARK, R. B., 1982. Plant response to mineral element toxicity and deficiency. In: *Breeding Plants for Less Favorable Environments*. N. N. Christiansen & C. F. Lewis, (Eds.). 71-142. Wiley Interscience, New York.
- CLIJSTERS, H. and VAN ASSCHE, F., 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosynth. Res.* 7: 31-40.
- COX, R. M., HUTCHINSON, T. C., 1980. Multiple metal tolerance in the grass *Deschampsia caespitosa* (L.) Beauv. from Sudbury smelting area. *New Phytol.*, 84: 635-647.
- DAVIES, K. L., DAVIES, M. S. and FRANCIS, D., 1991. The influence of an inhibitor of phytochelatin synthesis on root growth and root meristem activity in *Festuca rubra* L. in response to zinc. *New Phytol.*, 118: 565-570.
- ELSTNER, E. F., WAGNER, G. A. and SCHUTZ, W. 1988. Activated oxygen in green plants in relation to stress situations. *Current Topics Plant Biochem. Physiol.*, 7: 159-187.
- ERNST, W. H. O., 1976. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In: *The Effects of Air Pollutants in Plants*. C. T. Mansfield, (ed.). 115-133, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- FOY, C. D., CHANEY, R. L. and WHITE, M. C., 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29: 511-566.
- GRILL, E., WINNACKER, E. L. and ZENK, M. H., 1985. Phytochelatins: the principal heavy metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230: 674-676.
- GUNSE, B., LLUGANY, M., POSCHENRIEDER, CH. and BARCELO, J., 1992. Growth, cell wall elasticity and plasticity in *Zea mays* L. coleoptiles exposed to cadmium. In: *Contaminación: efectos fisiológicos y mecanismos de actuación de contaminantes*. División de Química Agrícola. Consejo de Publicaciones de la Universidad de Alicante. 1: 179-188.
- IGLESIAS, A. A. and ANDREO, C. S., 1984. Inhibition of *Zea mays* phosphoenolpyruvate carboxylase by copper and cadmium ions. *Photosynthetica*, 18: 134-138.
- JACKSON, P. J., UNKEFER, C. J., DELHAIZE, E. and ROBINSON, N. J., 1990. Mechanisms of trace metal tolerance in plants. In: *Environmental Injury to Plants*. F. Katterman, (ed.). 231-255, Academic Press, San Diego.
- KABATA-PENDIAS, A. and PENDIAS, H., 1984. *Trace Elements in Soil and Plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- LARCHER, W., 1987. Stress bei Pflanzen. *Naturwtschft.*, 74: 158-167.
- LARSSON, C., MOLLER, I. M. (Eds.), 1990. *The Plasma Membrane. Structure, Function and Molecular Biology*. Springer Verlag, Berlin.

- LEVITT, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, 1. Academic Press, New York.
- LINDBERG, S., WINGSTRAND, G., 1985. Mechanism of Cd²⁺ inhibition of (K⁺ + Mg²⁺) ATPase activity and K⁺ (Rb⁺) uptake in roots of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Physiol Plant.*, 63: 181-186.
- MACNAIR, M. R., 1981. Tolerance of higher plants to toxic metals. In: Genetic Consequences of Man Made Change. J. A. Bishop & S. L. M. Cook, (Eds.), 177-207, Academic Press, London.
- MARGOSHES, M. and VALLEE, B. L., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 4813-4814.
- MARSCHNER, H., 1990. Nutrient dynamics in the rhizosphere. In: Nutrición Mineral Bajo Condiciones de Estrés. 1-13, Servei de Public. i Intercanvi Científic de la UIB, Palma de Mallorca.
- McCLINTOCK, B., 1984. The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 226: 792-801.
- NIEBOER, E. and RICHARDSON, D. H. S., 1980. The replacement of the nondescript term "heavy metals" by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ. Pollut. Ser. B*, 1: 3-26.
- PAIVOKKE, A., 1983. Anatomical response of the roots of pea seedlings to lead and arsenate ions. *Ann. Bot. Fenn.* 20: 307-315.
- PALMA, J. M., SANDALIO, L. M. and DEL RIO, L. A., 1986. Manganese superoxide dismutase and higher plant chloroplast: a reappraisal of a controverted cellular localisation. *J. Plant Physiol.*, 125: 427-439.
- PALMA, J. M., GOMEZ, M., YANEZ, J. and DEL RIO, L. A., 1987. Increased levels of peroxisomal active oxygen-related enzymes in copper-tolerant pea plants. *Plant Physiol.*, 85: 570-574.
- PHIPPS, D. A., 1981. Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems. In: Effect of Heavy Metal Pollution on Plants, vol. 1. N. W. Lepp, (Ed.). 1-54. Appl. Sci. Publ., London.
- POSCHENRIEDER, CH., GUNSE, B. and BARCELO, J., 1989. Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol.*, 90: 136-371.
- RAUSER, W. W. E., 1990. Phytochelatins. *Ann. Rev. Biochem.*, 59: 61-86.
- ROBINSON, N. J., 1990. Metal-binding polypeptides in plants. In: Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. A. J. Shaw, (Ed.), 195-214, CRC Press, Boca Raton, Florida.
- SEYLE, H., 1973. The evolution of the stress concept. *American Scientist*, 61: 693-699.
- SHAW, A. J. (Ed.), 1990. Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- SIGEL, H., SIGEL, A. (Eds.), 1988. Metal Ions in Biological Systems, vol. 24, Aluminum and Its Role in Biology. Marcel Dekker Inc., New York.
- STEFFENS, J. C., 1990. Heavy metal stress and the phytochelation response. In: Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms. C. G. Alsher & J. R. Cummings, (Eds.). 277-394, Willey-Liss, New York.
- STEFFENS, J. C., HUNT, D. F. and WILLIAMS, B. G., 1986. Accumulation of non-protein heavy metal-binding polypeptides (—glutamyl-cisteinyl)_n —glycine in selected cadmium-resistant tomato cells. *J. Biol. Chem.*, 261: 13879-13882.
- STIBOROVA, M., DOUBRAVOVA, M., BREZINOVA, A. and FRIEDRICH, A., 1986.

- Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.) *Photosynthetica*, 20: 418-425.
- STRANGE, J. and MACNAIR, M. R., 1991. Evidence for a role for the cell membrane in copper tolerance of *Mimulus guttatus* Fischer ex DC. *New Phytol.*, 119: 383-388.
- TILLER, K. G., 1989. Heavy metals in soils and their environmental significance. In: *Advances in Soil Science*, 9, B. A. Steward, (Ed.). 113-142, Springer Verlag, New York.
- TOMSETT, A. B. and THURMAN, D. A., 1988. Molecular biology of metal tolerance in plants. *Plant Cell Environ.*, 11: 383-394.
- VAN ASSCHE, F. and CLIJSTERS, H., 1990. Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.*, 13: 195-206.
- VAN ASSCHE, F., VANGRONSVELD, J. and CLIJSTERS, H., 1990. Physiological aspects of metal toxicity in plants. In: *Environmental Contamination 1990*. J. Barceló, (Ed.), 246-250. CEP Consultants Ltd., Edinburgh.
- VAN STEVENINCK, R. F. M., VAN STEVENINCK, M. E., WELLS, A. J. and FERNANDO, D. R., 1990. Zinc tolerance and the binding of zinc as phytate in *Lemna minor*; X-ray microanalytical evidence. *J. Plant Physiol.*, 137: 140-146.
- VAZQUEZ, M. D., POSCHENRIEDER, CH. and BARCELO, J., 1987. Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ann. Bot. (London)*, 59: 427-438.
- VAZQUEZ, M. D., POSCHENRIEDER, CH. and BARCELO, J., 1989. Pulvinus structure and leaf abscission in cadmium-treated bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Can. J. Bot.*, 67: 2756-2764.
- VAZQUEZ, M. D., POSCHENRIEDER, CH., MADICO, J., HATTON, P., BAKER, A. J. M. and COPE, G. H., 1992. Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. *J. Plant Physiol.* (en prensa).
- VOS DE, C. H. R., SHAT, H., DE WAAL, H. A. M., VOOIJS, R., ERNST, W. H. O., 1991. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus* *Physiol. Plant*, 82: 523-528.
- WALLNOFER, P. R. and ENGELHARDT, G., 1988. Schadstoffe die aus dem Boden aufgenommen werden. In: *Schadwirkungen auf Pflanzen*. B. Hock, E. F. Elstner, (Eds.), 95-117, Wissenschaftsverlag, Mannheim.
- WANG, J., EVANGELOU, B. P., NIELSEN, M. T. and WAGNER, G. J., 1991. Computer-simulated evaluation of possible mechanisms for quenching heavy metal ion activity in plant vacuoles. I. Cadmium. *Plant Physiol.*, 97: 1154-1160.

Recibido: 11-5-92.

Aceptado: 4-6-92.