
BIOMARCADORES DE CONTAMINACIÓN POR CADMIO EN LAS PLANTAS

BEATRIZ PERNÍA, ANDREA DE SOUSA, ROSA REYES
y MARISOL CASTRILLO

RESUMEN

Debido a la función vital que desempeñan las plantas en los ecosistemas, estos organismos han sido utilizados para la diagnosis o predicción de las consecuencias negativas de actividades antropogénicas mediante el estudio de sus procesos fisiológicos, respuestas bioquímicas, mecanismos de adaptación y mortalidad. Las respuestas que tienen lugar en los organismos como consecuencia del efecto de un contaminante se han denominado biomarcadores. Éstos pueden definirse como las variaciones bioquímicas, celulares, fisiológicas o comportamentales que pueden ser medidas en el tejido, en los fluidos corporales y/o a nivel del organismo completo, y brindan evidencia de la exposición a uno o más componentes químicos. Los biomarcadores ofrecen información completa y biológicamente relevante sobre el potencial impacto de los contami-

nantes tóxicos en la salud de los organismos. Tienen la ventaja de poner en evidencia síntomas tempranos del daño causado por el contaminante y, por tanto, pueden ser utilizados como señales de alarma ante la presencia de contaminantes químicos. En este trabajo se analiza información referente a las plantas como posibles bioindicadoras de contaminación por cadmio y de los biomarcadores que pueden ser utilizados para monitoreo ambiental. Para este fin, se describe al Cd como contaminante ambiental, se presenta su ciclo biogeoquímico, las fuentes naturales y antropogénicas, y sus efectos sobre las plantas y el medio ambiente. Seguidamente se presentan las principales respuestas moleculares de las plantas como señales de alarma temprana del daño generado por Cd y se propone su uso en el monitoreo de la contaminación por este metal.

Las plantas son organismos sedentarios, base de la cadena alimenticia y sensibles a las variaciones medioambientales. Reaccionan más rápido ante la presencia de contaminantes que otros organismos, lo que las convierte en elementos idóneos para el monitoreo de la contaminación (Ferrat *et al.*, 2003; Gianazza *et al.*, 2007). Desde hace algunos años, las plantas están siendo utilizadas como bioindicadores de la contaminación, definidos como organismos cuya presencia y/o abundancia es representativa para una o más propiedades del ecosistema en donde se encuentran, por lo que permiten determinar con precisión el impacto de acciones antropogénicas. Un bioindicador debe ser un organismo sedentario, de importancia

ecológica, estudiado y sensible a las variaciones medioambientales (Capó, 2002). Los biomarcadores, por su parte, pueden definirse como “las variaciones bioquímicas, celulares, fisiológicas o comportamentales que pueden ser medidas en el tejido, en los fluidos corporales y/o a nivel de organismo completo; que brindan evidencia de la exposición a uno o más componentes químicos o radiación” (Depledge *et al.*, 1995). Los biomarcadores ofrecen información completa y biológicamente relevante sobre el potencial impacto de los contaminantes tóxicos en la salud de los organismos (van der Oost *et al.*, 1996). Tienen la ventaja de poner en evidencia síntomas tempranos del daño causado por el contaminante y, por tanto, pueden ser utilizados como señales de alarma temprana

de la presencia de contaminantes químicos (Livingstone, 1993; Melacon, 1995; Reyes, 1999; Ferrat *et al.*, 2003; Bozo *et al.*, 2007).

Es ampliamente reseñado en la literatura que la exposición de las plantas a metales pesados trae como consecuencia variadas respuestas biológicas, a nivel bioquímico, celular y fisiológico, cambios a los que se denomina biomarcadores (Livingstone, 1993; Melacon, 1995; Reyes *et al.*, 2001). Los principales biomarcadores reseñados en plantas como respuesta a la exposición a metales pesados son aumento en la peroxidación lipídica, variaciones en la relación clorofila/carotenoides, aumento en la concentración de ácido jasmónico, nicotianamina, glutatión (GSH) y tioles, aparición de péptidos quelantes y fitoquelatinas, y aumen-

PALABRAS CLAVE / Biomarcadores / Cadmio / Monitoreo Ambiental / Plantas / Señales de Alarma Temprana /

Recibido: 27/07/2007. Modificado: 03/01/2008. Aceptado: 07/01/2008.

Beatriz Pernía. Licenciada en Biología y estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Simón Bolívar (USB), Venezuela. e-mail: beatriz_pernia@yahoo.es

Andrea De Sousa. Licenciada en Biología y estudiante de Maestría en Ciencias Biológicas, USB, Venezuela. e-mail: andreadesousa@cantv.net

Rosa Reyes. Doctora en Ciencias Biológicas, USB, Venezuela. Profesora, USB, Venezuela. Dirección: Departamento de Biología de Organismos, USB, Apartado 89000, Caracas 1080A, Venezuela. e-mail: rereyes@usb.ve

Marisol Castrillo. Ph.D. en Fotosíntesis y Metabolismo Vegetal, Oxford University, RU. Profesora, USB, Venezuela. e-mail: mcastr@usb.ve

to en la actividad o inhibición de las enzimas antioxidantes (Gallego *et al.*, 1996; Weber *et al.*, 2004; Smeets *et al.*, 2005; De la Rosa *et al.*, 2005; Mendoza y Moreno, 2006).

El cadmio es un metal pesado muy utilizado en diversas industrias y ampliamente estudiado en las plantas debido a sus efectos tóxicos. Las respuestas a este metal no son específicas, ya que no difieren significativamente de las reseñadas para otros metales pesados. En este trabajo se analiza información referente a las plantas como posibles bioindicadoras de contaminación por Cd y de los biomarcadores que pueden ser utilizados para monitoreo ambiental. Para este fin, se describe al Cd como contaminante ambiental y sus efectos sobre las plantas y el medio ambiente. Seguidamente se presentan las respuestas moleculares de las plantas como señales de alarma temprana del daño generado por cadmio y se propone su uso en el monitoreo de la contaminación por este metal.

El Cadmio en la Naturaleza y en las Plantas

El Cd es un metal pesado tóxico, miembro del grupo IIB de la tabla periódica de elementos químicos y presente en el suelo, sedimentos, aire y agua (Weisberg *et al.*, 2003). Sus principales fuentes naturales son las erupciones volcánicas, las quemaduras forestales y el transporte de partículas del suelo por el viento. Por otra parte, la actividad humana libera 3-10 veces más Cd al ambiente. En los últimos años, la contaminación por este metal ha aumentado a causa de actividades industriales tales como minería, fundición de metales, enchapado eléctrico (*electroplating*), uso y purificación de Cd, quema de combustibles fósiles, uso de fertilizantes fosfatados, fabricación de baterías, cemento, pigmentos y plásticos (Palus *et al.*, 2003; Weisberg *et al.*, 2003).

El Cd generado por erupciones volcánicas y actividades antropogénicas es removido de la atmósfera por deposición de partículas o por precipitación. Luego, por escorrentía y erosión es transportado a ríos y océanos. De igual forma, los efluentes industriales con Cd llegan a los ríos donde es absorbido por la materia particulada (Salazar y Reyes, 2000). Finalmente, los ríos contaminados con Cd pueden a su vez contaminar tierras cercanas a través de la irrigación de cultivos o por deposición de sedimentos dragados. El Cd puede combinarse con otros elementos y formar compuestos tales como cloruros, óxidos y sulfuros, los cuales se unen fuertemente a las partículas del suelo permaneciendo en él por muchos años. Se estima que su vida media es de 15-30 años (Henson y Chedrese, 2004; Maruthi *et al.*, 2005).

Como todos los metales pesados, el Cd puede acumularse en los

organismos, transferirse de un nivel trófico al siguiente y multiplicar su concentración a lo largo de las cadenas tróficas (De Acevedo, 2003). Estos elementos se encuentran por lo general en una forma no biodisponible, poco soluble en agua o unido a partículas del suelo. La absorción de Cd por parte de las raíces depende tanto de su biodisponibilidad como de su concentración en el suelo, de la presencia de materia orgánica, el pH, el potencial redox, la temperatura, la concentración de otros elementos (Di Toppi y Gabrielli, 1999), la salinidad, la intensidad de la luz y el nivel de O₂ (Prasad *et al.*, 2001). Sin embargo, las plantas son capaces de acidificar el suelo modulando la actividad de una ATPasa de membrana denominada H⁺ATPasa, por medio de fitosideróforos o por la producción de exudados carboxilados, haciendo biodisponible los metales pesados presentes. Según Clemens (2006) el Cd también puede penetrar utilizando transportadores de otros metales tales como Ca²⁺, Fe²⁺ y Zn²⁺. De igual forma, las bacterias y las micorrizas desempeñan un papel importante en la biodisponibilidad de estos metales en el suelo (Clemens *et al.*, 2002).

Una vez que los metales se han movilizado, son capturados por las células de las raíces, donde se unen inicialmente

a la pared celular de las células epidérmicas para ser luego translocados por intercambio iónico al resto de la planta. Este proceso puede estar mediado por transportadores, como en *Oryza sativa* (Homma e Hirata, 1984), *Zea mays* L. (Mullins y Sommers, 1986) y *Glicine max* (Cataldo *et al.*, 1983), por difusión simple como en *Hordeum vulgare* (Soloiz y Vulpe, 1996) o por ambas, como en el caso de *Triticum turgidum* (Hart *et al.*, 1998). Los efectos más notables en plantas expuestas al Cd han sido reseñados por varios autores y se muestran en la Tabla I.

Biomarcadores de Contaminación por Cadmio en las Plantas

Aumento en la peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica implica la formación y propagación de radicales lipídicos, pérdida de O₂ y la eventual destrucción de las membranas, generando una variedad de productos que incluye cetonas, alcoholes, éteres y aldehídos. Uno de estos productos es el malondialdehído (MDA) generado con la ruptura de los ácidos grasos poliinsaturados, el que es utilizado para determinar el grado de peroxidación. Un interesante biomarcador general de estrés oxidativo es el incremento en la concentra-

TABLA I
EFECTOS DEL CADMIO SOBRE LAS PLANTAS

Efectos	Referencias
Reducción en el crecimiento y de la elongación de las raíces	Wang y Zhou, 2005; Chaoui y Ferjani, 2005; Pomponi <i>et al.</i> , 2006; Aina <i>et al.</i> , 2007; Gianaza <i>et al.</i> , 2007; Wang <i>et al.</i> , 2007
Inhibición de la apertura estomática	Barceló <i>et al.</i> , 1986; Barceló y Poschenrieder, 1990
Inhibición de la síntesis de clorofila	Padmaja <i>et al.</i> , 1990; Wu <i>et al.</i> , 2004; Drazic y Mihailovic, 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006
Inhibición de la fotosíntesis	Van Assche y Clijsters, 1990; Pietrini <i>et al.</i> , 2003; Drakiewicz <i>et al.</i> , 2003; Dalla Vecchia <i>et al.</i> , 2005
Clorosis	Aidid y Okamoto, 1992; Aravind y Prasad, 2003, 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006
Disminución en el contenido de carotenoides	Larsson <i>et al.</i> , 1998; Rai <i>et al.</i> , 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006
Disminución en la tasa de transpiración	Haag-Kerwer <i>et al.</i> , 1999; Sandalio <i>et al.</i> , 2001
Inhibición de la germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico	Xiong y Peng, 2001
Aumento en los niveles de peroxidación lipídica	Chaoui <i>et al.</i> , 1997; Zhang <i>et al.</i> , 2005; Mishra <i>et al.</i> , 2006; Singh <i>et al.</i> , 2006
Estrés oxidativo y enzimas antioxidantes	Romero-Puertas <i>et al.</i> , 2004, 2007; Gallego <i>et al.</i> , 2005; Maksymiec y Krupa, 2006; Brahim <i>et al.</i> , 2007; Han <i>et al.</i> , 2008
Inhibición de la fosforilación oxidativa mitocondrial	Kessler y Brand, 1995
Interferencia con la toma, transporte y uso de varios macro y micronutrientes, especialmente Fe, Mn y Zn	Di Toppi y Gabrielli, 1999; Zhou y Qiu, 2005
Aceleración de la senescencia celular	Di Toppi y Gabrielli, 1999
Reacciones semejantes a hipersensibilidad	Piqueras <i>et al.</i> , 1999
Reducción del intercambio normal de H ⁺ /K ⁺ y la actividad de la ATPasa de membrana plasmática	Obata <i>et al.</i> , 1996
Disturbio en el control Redox y el metabolismo	Schützendübel y Polle, 2002; Devi <i>et al.</i> , 2007; Ernst <i>et al.</i> , 2008
Polimorfismos en el ADN	Mukherjee <i>et al.</i> , 2004; Liu <i>et al.</i> , 2005

ción de especies generadas por la reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico (TBA; Buege y Aust, 1978).

Singh *et al.* (2006) expusieron plantas de *Bacopa monnieri* L. a distintas concentraciones de Cd y a distintos períodos de exposición, observando un aumento de especies reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) proporcional a las concentraciones del metal y al tiempo de exposición, tanto en raíces como en hojas, indicando que el Cd genera peroxidación lipídica y estrés oxidativo. De aquí que la medición de este parámetro puede ser utilizado como un biomarcador del estrés generado por el Cd. Algunas de las especies donde se ha reseñado un aumento en la peroxidación lipídica al exponerlas a concentraciones crecientes de Cd son *Allium sativum* (Zhang *et al.*, 2005), *Helianthus annuus* L. (Gallego *et al.*, 2005), *Phaseolus vulgaris* L. (Chaoui *et al.*, 1997; Smeets *et al.*, 2005), *Pisum sativum* L. (Chaoui y Ferjani, 2005), *O. sativa* (Shah *et al.*, 2001) y *H. vulgare* (Wu *et al.*, 2004).

Variación en la relación clorofila/carotenoides

Es ampliamente aceptado que los metales pesados pueden sustituir al ión Mg en la molécula de clorofila, lo que imposibilita la captación de fotones, generando como consecuencia una disminución de la actividad fotosintética. Los carotenoides desempeñan un papel importante en el ensamblaje de los complejos captadores de luz y tienen una función indispensable, ya que protegen al aparato fotosintético del daño fotooxidativo (Taiz y Zeiger, 2006; Buchanan *et al.*, 2002). Ferrat *et al.*, (2003) indicaron que en condiciones de estrés oxidativo las plantas aumentan sus concentraciones de carotenoides, como una medida para contrarrestar la formación de radicales libres. La relación clorofila/carotenoide disminuye, por lo que puede ser considerada como un biomarcador del estrés generado por metales pesados. La disminución en la concentración de clorofila es atribuida al hecho de que el Cd inhibe su biosíntesis a través de las enzimas implicadas en este proceso.

Aumento en la concentración de ácido jasmónico

El ácido jasmónico fue identificado inicialmente como un inhibidor del crecimiento. Actualmente se sabe que está implicado en varios procesos fisiológicos, tales como inhibición de la germinación de las semillas y del crecimiento de las raíces, activación de la producción de inhibidores de proteasas y la síntesis de proteínas antifúngicas (Buchanan *et al.*, 2002; Taiz y Zeiger, 2006), disminución en la actividad del sistema fotosintético (Maslénkova *et al.*, 1990), incremento en la producción de metabolitos secundarios (Blee, 2002), aceleración en el proceso de senescencia (Ueda y Kato,

1980) y adaptación al estrés salino (Walia *et al.*, 2007). Según Maksymiec *et al.*, (2005, 2007), este ácido es aparentemente sintetizado en respuesta a varios estímulos bióticos y abióticos, tales como ataque de patógenos, heridas y estrés osmótico.

Existen evidencias de que los metales pesados inducen la síntesis de proteínas similares a las expresadas en presencia de patógenos, así como la expresión de genes marcadores de la respuesta de hipersensibilidad (Pontier *et al.*, 1999). Basados en estas premisas y considerando que el estrés por metales pesados generaba cambios muy similares a los del ácido jasmónico, surgió la hipótesis que estos efectos se debían a la inducción de una vía de señalización relacionada con la del ácido jasmónico (Maksymiec *et al.*, 2005; Maksymiec, 2007; Maksymiec y Krupa, 2007; Balbi y Devoto, 2008). Una de las evidencias más resaltantes fue la obtenida por Maksymiec y Krupa (2002) y Maksymiec *et al.* (2007), quienes observaron una disminución en el efecto de los iones de Cd en algunos parámetros de crecimiento y en la actividad del aparato fotosintético en *Arabidopsis thaliana* al aplicar inhibidores de la síntesis de ácido jasmónico. Cabe destacar que el aumento del contenido de ácido jasmónico no está relacionado con la tolerancia, sino que por el contrario implica un incremento en los procesos degenerativos de las membranas que generan sustratos para la vía de los octadecanoides implicados en la síntesis de jasmonatos (Maksymiec *et al.*, 2005). De aquí que la medición de este parámetro sería un excelente biomarcador para la detección temprana del daño generado por el Cd en las plantas y probablemente por otros metales pesados.

Nicotianamina

La nicotianamina es un aminoácido no proteínogénico, reseñado en gramíneas como el precursor de la biosíntesis del ácido mugéico, perteneciente a la familia de los fitosideróforos, que son excretados por las raíces para atrapar Fe III en el suelo (Shojima *et al.*, 1990). Sin embargo, las plantas no gramíneas carecen de la maquinaria para sintetizar fitosideróforos (Kim *et al.*, 2005). La nicotianamina es sintetizada por la trimerización de tres moléculas de S-adenosil metionina, cuya reacción es catalizada por la nicotianamina sintetasa (NAS; Higuchi *et al.*, 1995).

La nicotianamina fue propuesta por Koike *et al.* (2004) como un excelente candidato para atrapar metales pesados y transportarlos en las plantas, desempeñando un papel importante en la tolerancia a estos metales (Pianelli *et al.*, 2005). Weber *et al.* (2004) reseñaron una sobreproducción constitutiva de nicotianamina en *Arabidopsis halleri* (hiperacumuladora de Zn y Cd), sugiriendo que estaba implicada en la homeos-

tasis del Zn y propusieron como hipótesis la intervención de la nicotianamina sintetasa en la hiperacumulación de metales. Kim *et al.* (2005) generaron plantas transgénicas de *Arabidopsis* y tabaco que expresaban constitutivamente el gen de una nicotianamina sintetasa, lo cual resultó en un aumento de nicotianamina y en la tolerancia a varios metales pesados, entre los cuales se encuentra el Cd. Estas evidencias llevaron a proponer a la nicotianamina como un importante compuesto participante en la depuración de metales pesados.

Aumento en actividad o inhibición de enzimas antioxidantes

Se ha reseñado que el Cd genera estrés oxidativo, el cual se caracteriza por la producción de grandes cantidades de especies reactivas de O₂ (ROS en inglés), consistentes en singletes de O₂, anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxil. Según Romero-Puertas *et al.* (2004) el Cd es capaz de aumentar seis veces el contenido de H₂O₂ en hojas de *Pisum sativum* tratadas con 50 μM de CdCl₂ en comparación con plantas control.

Las especies reactivas de O₂ son muy tóxicas porque pueden reaccionar con componentes celulares, generando una cascada de reacciones que culminan en la ruptura de ácidos nucleicos y proteínas, así como en degradación de pigmentos, inactivación de enzimas y peroxidación lipídica. Sin embargo, su producción es un proceso natural que ocurre en la fotosíntesis, por lo que las plantas han desarrollado un mecanismo de depuración de estos radicales, llamado sistema antioxidante. Este sistema está integrado por las enzimas catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, ascorbato peroxidasa, guaiacol peroxidasa, y por glutatión, tioles, flavonoides, flavonas, vitaminas (Medici *et al.*, 2004).

Lagriffoul *et al.* (1998) consideraron que las medidas de actividad enzimática pueden ser utilizadas como biomarcadores tempranos en bioensayos con plantas que se encuentran en suelos contaminados. De igual forma, De la Rosa *et al.* (2005) señalaron que la actividad de las enzimas puede ser la base para el monitoreo y la predicción de los efectos de los metales pesados, antes de que ocurran cambios significativos en la estructura natural de las comunidades. La Tabla II resume el comportamiento de varias enzimas en diferentes especies de plantas expuestas a distintas concentraciones de Cd.

Fitoquelatinas, glutatión y tioles

Las fitoquelatinas (FQ) son polipéptidos que enlazan metales, de PM entre 10 y 14 kDa, y han sido descritas en todos los organismos autótrofos (Steffens, 1990; Grill *et al.*, 1991; Kneer y

TABLA II
EFECTOS DEL CD SOBRE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN DIFERENTES ESPECIES DE PLANTAS

Especie	Órgano	[Cd]	SOD	CAT	APX	GPX	GR	Referencia
<i>Allium sativum</i> L.	Hojas	1mM	↑	↓	↑	NR	NR	Zhang <i>et al.</i> , 2005
		10mM	↓	↓	↑	NR	NR	
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	Hojas	100µM	↓	↑	↑	NR	NR	Maksymiec y Krupa, 2006
<i>Avena sativa</i> L.	Hojas	≤3,12mg/Kg*	↑	↑	NR	NR	↑	De la Rosa <i>et al.</i> , 2005
		>6,25mg/Kg*	-	-	NR	NR	-	
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell	Hojas	≤50µM	↑	↓	↑	↑	NE	Singh <i>et al.</i> , 2006
		>50µM	↓	↓	↑	↑	NR	
	Raíces	≤50µM	↑	↓	↑	↑	NR	
		>50µM	↑	↓	↑	↑	NR	
<i>Brassica campestris</i> L. cv. <i>chinensis</i>	Hojas	≤3,12mg/Kg*	↑	↑	NR	NR	↑	De la Rosa <i>et al.</i> , 2005
		>3,12mg/Kg*	-	-	NR	NR	-	
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	Planta	10µM	↑	NA	↑	↑	↓	Aravind y Prasad, 2005
<i>Cuscuta reflexa</i> Roxb.	Callos	≤300µM	NR	↑	↑	↑	↑	Srivastava <i>et al.</i> , 2004
		500µM	NR	↓	↓	↓	↓	
	Plántulas	≤300µM	NR	↑	↑	↑	↑	
		500µM	NR	↑	↑	↑	↓	
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Hojas	0,5mM	NA	NA	↑	NR	NA	Cakmak <i>et al.</i> , 2000
	Raíces		NA	↑	↓	NR	↑	
<i>Helianthus annuus</i> L.	Hojas	0,5mM	↓	↓	↓	NR	↓	Gallego <i>et al.</i> , 1996
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Hojas	1-5µM	↑	↑	↑	NR	NR	Wu <i>et al.</i> , 2004
<i>Lactuca sativa</i> L. cv. Hanson	Hojas	≤3,12mg/Kg	↑	↑	NR	NR	↑	De la Rosa <i>et al.</i> , 2005
		>12,5mg/Kg	-	-	NR	NR	-	
<i>Lemna minor</i> L.			NR	↓	NR	NR	NR	Mohan y Hosetti, 1997
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.			NR	NR	↑	NR	NR	Mazhoudi <i>et al.</i> , 1997
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Células (BY-2)	5mM	↑	NA	↑	NR	NR	Olmos <i>et al.</i> , 2003
<i>Oryza sativa</i> L.	Vástago	≤100µM	↑	↑	NR	↑	NR	Shah <i>et al.</i> , 2001
		500µM	↑	↓	NR	↑	NR	
	Raíz	≤100µM	↑	↑	NR	↑	NR	
		500µM	↑	↓	NR	↑	NR	
<i>Phaseolus aureus</i> L.			↑	↓	↑		NR	Shaw, 1995
<i>P. vulgaris</i> L.	Hojas	5µM		↓	↑	NA	↑	Shaw, 1995 ; Chaoui <i>et al.</i> , 1997 ; Smeets <i>et al.</i> , 2005
	Raíces			↓	NA	↑		Chaoui <i>et al.</i> , 1997
	Tallos			NA	NA	↓		Chaoui <i>et al.</i> , 1997
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. Ex. Seudel	Hojas	50µM	↑	NA	↑	↓	NA	Pietrini <i>et al.</i> , 2003
		100µM	↑	NA	↑	↓	↑	
	Cloroplastos	50µM	↑	ND	↑	↑	NA	
		100µM	↑	ND	↑	↓	↑	
<i>Pisum sativum</i> L.	Hojas	100µM	↓	↓	↑	↑	NR	Dalurzo <i>et al.</i> , 1997 cit. en Rodríguez <i>et al.</i> , 2002
	Raíces y Hojas	100µM	↓	NR	↑	↑	NR	Chaoui <i>et al.</i> , 2004; Chaoui y Ferjani, 2005
<i>Salsola kali</i> L.	Hojas	45,89 y 178µM		↓				De la Rosa <i>et al.</i> , 2005
<i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl	Hojas	178µM	↓	↓	NA	↑	NR	Boominathan y Doran, 2003
<i>Triticum aestivum</i> L.	Hojas		NR	NR	NR	↑	NR	Ranieri <i>et al.</i> , 2005
	Raíces		NR	NR	NR	NA	NR	
<i>T. durum</i> Desf. cv. Adamello	Hojas	1-10µM	↓	↑	↓	NA	NR	Milone <i>et al.</i> , 2003
	Raíces	1-10µM	↓	↑	↑	↑	NR	
<i>T. durum</i> Desf. cv. Adamello	Hojas	1-10µM	NA	NA	↑	↑	NR	Milone <i>et al.</i> , 2003
	Raíces	1-10µM	↓	NA	↓	↓	NR	
<i>Zea mays</i> L.	Hojas	25µM	NR	NR	↑	NR	NR	Lagriffoul <i>et al.</i> , 1998

SOD: superóxido dismutasa (EC 1.15.1.1), CAT: catalasa (EC. 1.11.1.6), APX: ascorbato peroxidasa (EC. 1.11.1.11), GPX: guaiaacol peroxidasa (EC. 1.11.1.7), GR: glutatión reductasa (EC.1.6.4.2). ↑: aumento de la actividad enzimática, ↓: disminución de la actividad enzimática, -: inhibición de la actividad enzimática, NA: no afectada, ND: no detectado, NR: no reseñado.

Zenk, 1992; Clemens, 2006). Estos péptidos actúan como agentes quelatantes, formando complejos con metales pesados en las plantas. Entre las funciones propuestas para las fitoquelatinas se encuentran la depuración de metales pesados, el mantenimiento del balance de los metales esenciales en las células y el transporte de formas reducidas del azufre asimilado (Robinson, 1989; Reyes, 1999; Rauser, 2003). La estructura de las fitoquelatinas es $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{X}$, donde X es un aminoácido (Gly, Ala, Ser o Glu) y n= 2-11, siendo lo más común es de 2 a 5 (Cobbett, 2000; Cobbett y Goldsbrough, 2002).

Para la síntesis de las fitoquelatinas es necesario en primer lugar, que ocurra la síntesis de cisteína necesaria para la formación de glutatión (GSH), proceso donde intervienen las enzimas γ -glutamil cys sintetasa y la glutatión sintetasa. Una vez que el metal pesado entra en contacto con la enzima fitoquelatina sintetasa, identificada por primera vez por Grill *et al.* (1987), ésta se activa y cataliza la conversión del glutatión a la molécula de fitoquelatina. Con la unión del Cd a la fitoquelatina el complejo es sequestrado y llevado a las vacuolas, donde se forma un complejo molecular pesado con

sulfuro (Cd-FQ-S) que ha sido considerado como la forma más estable para almacenar el metal (Mendoza y Moreno, 2006).

Bruns *et al.* (1997) propusieron el uso de las fitoquelatinas como un marcador fisiológico de contaminación por metales pesados, en especial del Cd, ya que encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de fitoquelatinas y las del metal en plantas. Este resultado coincide con el reseñado por Ranieri *et al.* (2005) quienes encontraron que la concentración de fitoquelatinas aumentó proporcionalmente con el tiempo de exposición al Cd, incrementándose 4,7 veces en un perío-

TABLE III
PRESENCIA DE TIOLES TOTALES (CISTEÍNA, GLUTATIÓ Y FITOQUELATINAS), GLUTATIÓ (GSH) Y
FITOQUELATINAS (FQ_n) EN DISTINTAS ESPECIES DE PLANTAS EXPUESTAS A CD

Especie	Órgano	[Cd]	Tioles	GSH	FQ	FQ ₂	FQ ₃	FQ ₄	FQ ₅	Referencia
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh		100µM	↑	↑	↑					Harada <i>et al.</i> , 2002
	Vástagos y raíces	5-100µM			↑					Wójcik y Tukiendorf, 2004
<i>Avena sativa</i> L.	Vástagos y raíces	250µM			↑	↑	↑			Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell	Raíces	10µM		↑	↑	↑	↑			Mishra <i>et al.</i> , 2006
		50µM		↓	↑	↓	↓			
	Hojas	10µM		↑	ND					
		50µM		↓	↑					
<i>Brassica juncea</i> (L.) Coss.	Hojas	25µM		↑	↑		↑	↑		Heiss <i>et al.</i> , 2003; Gadapati y Macfie, 2006
<i>Capsicum annuum</i> L.	Raíces	150µM		↓	↑	↑	↑	↑		Jemal <i>et al.</i> , 1998
<i>Cicer arietinum</i> L.	Raíces	20µM			↑	↑	↑	↑	↑	Gupta <i>et al.</i> , 2002, 2004
<i>Cuscuta reflexa</i> Roxb.	Callos	100µM			↑			↑		Srivastava <i>et al.</i> , 2004
		300µM			↑		↑↑	↑		
	Plántulas	300µM			↑			↑		
		500µM			↑		↑↑	↑		
<i>Datura innoxia</i> Mill.					↑					Delhaize <i>et al.</i> , 1989
<i>Helianthus annuus</i> L.	Callos	150µM		↑	↑	↑	↑↑	↑		Gallego <i>et al.</i> , 2005
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Raíces	0,5µM		↑						Wu <i>et al.</i> , 2004
<i>Lactuca sativa</i> L.	Hojas y raíces	7; 32,1 y 47,4µM		↑	↑					Maier <i>et al.</i> , 2003
<i>Lycopersicon peruvianum</i> (L.) Mill.					↑					Bennetzen y Adams, 1984
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Células (BY-2)	50 y 100µM			↑					Fojta <i>et al.</i> , 2006
<i>Oryza sativa</i> L.		10µM		↑						Aina <i>et al.</i> , 2007
	Raíces	100µM			↑		↑			
<i>Panicum violaceum</i> L.	Vástagos y raíces	250µM			↑	↑	↑			Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Pennisetum setaceum</i> Hochst.	Vástagos y raíces	250µM			↑	↑	↑			Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Phleum pratense</i> L.	Vástagos y raíces	250µM			↑	↑	↑			Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin.	Hojas			↑						Fediuc <i>et al.</i> , 2005; Pietrini <i>et al.</i> , 2003
	Vástagos y raíces	250µM		↓	↑	↑	↑	↑		Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Rauwolfia serpentina</i> Benth. et Kurz.	Células	100µM			↑					Kneer y Zenk, 1992
<i>Salsola kali</i> L.	Raíces	45; 89 y 78µM	↑							De la Rosa <i>et al.</i> , 2005
<i>Secale cereale</i> L.	Vástagos y raíces	250µM			↑					Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Silene vulgaris</i> (Moench.) Garcke	Raíces	2µM			↑	↑	↑			Sneller <i>et al.</i> , 1999, Ernst <i>et al.</i> , 2000
<i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl	Raíces	5; 25; 50; 100; 250; 500 y 1000µM			↑					Hernández <i>et al.</i> , 2006; Wojcik <i>et al.</i> , 2005
	Vástagos y raíces	500µM	↓	↑	↑	↑	↑	↑		Wojcik <i>et al.</i> , 2005
<i>Triticum aestivum</i> L.	Hojas y raíces	1mM		↑	↑	↑	↑	↑		Ranieri <i>et al.</i> , 2005
		10nM			ND					Keltjens y van Beusichem 1998; Stolt <i>et al.</i> , 2003
	Vástago y raíces	2µM			↑	↑	↑			
		30µM			↑		↑	↑		
	Raíces	20µM			↑					Sun <i>et al.</i> , 2005b
	Vástago y raíces	250µM			↑					Klapheck <i>et al.</i> , 1994
<i>Vigna angularis</i> (Willd.) Ohwi & H. Ohashi	Raíces	10µM			↑					Oven <i>et al.</i> , 2001
<i>Zea mays</i> L.	Vástago y raíces	2; 10; 100 y 200µM		↑	↑	↑	↑	↑	↑	Keltjens y van Beusichem 1998; Drazkiewicz <i>et al.</i> , 2003; Rauser, 2003; Klejdus <i>et al.</i> , 2004

do de 10h. Sumado a ello, las fitoquelatinas pueden ser detectadas mucho antes de que se incremente la concentración de metales, por lo que pueden ser utilizadas como biomarcadores de contaminación por metales pesados (Keltjens y van Beusichem, 1998).

La Tabla III resume las variaciones observadas en varias especies de plantas expuestas a Cd con respecto a la presencia de tioles, glutatió y fitoquelatinas.

Consideraciones Finales

Las plantas han sido utilizadas para la diagnosis y/o predicci3n de las consecuencias negativas de las actividades antropogénicas. En el caso de la contaminaci3n por Cd, está ampliamente documentado

en la literatura que las plantas responden a este metal activando la síntesis de glutati3n, fitoquelatinas y nicotianamina como respuestas específicas a este tipo de contaminantes. De igual modo, hay una gama de respuestas moleculares generales, tales como el aumento de la peroxidaci3n lipídica y la concentraci3n del ácido jasmónico, y alteraciones en la actividad de las enzimas antioxidantes. Estas respuestas biológicas hacen de las plantas excelentes indicadoras de contaminaci3n por este metal pesado, pudiendo ser importantes herramientas para el monitoreo ambiental.

REFERENCIAS

Aidid SB, Okamoto H (1992) Effects of lead, cadmium and zinc on the electric membrane potential

at the xylem: symplast interface and cell elongation of *Impatiens balsamina*. *Env. Exp. Bot.* 32: 439-448.

Aina R, Labra M, Fumagalli P, Vannini C, Marsoni M, Cucchi U, Bracale M, Sgorbati S, Citterio S (2007) Thiol-peptide level and proteomic changes in response to cadmium toxicity in *Oryza sativa* L. roots. *Env. Exp. Bot.* 59: 381-392.

Aravind P, Prasad MNV (2003) Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L.: a free floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol. Biochem.* 41: 391-397.

Aravind P, Prasad M (2005) Modulation of cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 107-116.

Balbi V, Devoto A (2008) Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory

- nodes and new physiological scenarios. *New Phytol.* 177: 301-318.
- Barceló J, Poschenrieder C (1990) Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J. Plant Nutr.* 13: 1-37.
- Barceló J, Poschenrieder C, Andreu I, Gunse B (1986) Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Contender). I. Effects on water potential, relative water content and cell wall elasticity. *J. Plant Physiol.* 125: 17-25.
- Bennetzen JL, Adams TL (1984) Selection and characterization of cadmium-resistant suspension cultures of the wild tomato *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Cell Rep.* 3: 258-261.
- Blee E (2002) Impact of phyto-oxylipins in plants defense. *Trends Plant Sci.* 7: 315-21.
- Boominathan R, Doran P (2003) Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnol Bioeng.* 83: 158-167.
- Bozo L, Fernández M, López M, Reyes R, Suárez P (2007) Biomarcadores de la contaminación química en comunidades microbianas. *Interiencia* 32: 8-13.
- Brahim S, Cuyppers A, Smeets K, Van Belleghem F, Horemans N, Schat H, Vangronsveld J (2007) Cadmium responses in *Arabidopsis thaliana*: glutathione metabolism and antioxidative defence system. *Physiol. Plant.* 129: 519-528.
- Bruns I, Friese K, Markert B, Krauss GJ (1997) The use of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. as a bioindicator for heavy metals. 2. Heavy metal accumulation and physiological reaction of *Fontinalis antipyretica* L. ex Hedw. in active biomonitoring in the River Elbe. *Sci. Total Env.* 204: 161-176.
- Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (2002) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, MD, EEUU. 1367 pp.
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52: 302-10.
- Cakmak I, Welch RM, Hart J, Norvell WA, Ozturk L, Kochian LV (2000) Uptake and retranslocation of leaf-applied cadmium (109Cd) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats. *J. Exp. Bot.* 51: 221-226.
- Capó M (2002) *Principios de ecotoxicología: diagnóstico, tratamiento y gestión ambiental*. Mc Graw-Hill. Madrid, España. 314 pp.
- Cataldo DA, Garland TR, Wildung RE (1983) Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiol.* 73: 844-848.
- Chaoui A, Ferjani EE (2005) Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Compt. Rend. Biol.* 328: 23-31.
- Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH, Ferjani EE (1997) Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 127: 139-147.
- Chaoui A, Jarrar B, Ferjani EE (2004) Effects of cadmium and copper on peroxidase, NADH oxidase and IAA oxidase activities in cell wall, soluble and microsomal membrane fractions of pea roots. *J. Plant Physiol.* 161: 1225-1234.
- Clemens S (2006) Evolution and function of phytochelatin synthases. *J. Plant Physiol.* 163: 319-332.
- Clemens S, Palmgren MG, Krämer PA (2002) Long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci.* 7: 309-315.
- Cobbett C (2000) Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 211-216.
- Cobbett C, Goldsbrough P (2002) Phytochelatins and metallothioneins: Roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annu Rev Plant Biol.* 53: 159-182.
- Dalla Vecchia F, La Rocca N, Moro I, De Faveri S, Andreoli C, Rascio N (2005) Morphogenetic, ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea canadensis* exposed to cadmium. *Plant Sci.* 168: 329-338.
- De Acevedo F (2003) *Toxicologia do Mercúrio*. RiMa. Sao Paulo, Brasil. 292 pp.
- De la Rosa G, Martínez-Martínez A, Pelayo H, Peralta-Videa JR, Sánchez-Salcido B, Gardea-Torresdey JL (2005) Production of low-molecular weight thiols as a response to cadmium uptake by tumbleweed (*Salsola kali*). *Plant Physiol. Biochem.* 43: 491-498.
- Delhaize E, Robinson NJ, Jackson PJ (1989) Effects of cadmium on gene expression in cadmium-tolerant and cadmium-sensitive *Datura innoxia* cells. *Plant Mol. Biol.* 12: 487-497.
- Depledge M, Aagaard A, Gyorkos P (1995) Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioral biomarkers. *Mar. Pollut. Bull.* 21: 19-27.
- Devi R, Munjal, Gupta K, Kaur N (2007) Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Env. Exp. Bot.* 61: 167-174.
- Di Toppi LS, Gabbriellini R (1999) Response to cadmium in higher plants. *Env. Exp. Bot.* 41: 105-130.
- Drazic G, Mihailovic N (2005) Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Sci.* 168: 511-517.
- Drazkiewicz M, Tukendorf A, Baszynski T (2003) Age-dependent response of maize leaf segments to cadmium treatment: Effect on chlorophyll fluorescence and phytochelatin accumulation. *J. Plant Physiol.* 160: 247-254.
- Ernst W, Nelissen H, Bookum W (2000) Combination toxicology of metal-enriched soils: physiological responses of a Zn- and Cd-resistant ecotype of *Silene vulgaris* on polymetallic soils. *Env. Exp. Bot.* 43: 55-71.
- Ernst W, Krauss G, Verkleij J, Wesenberg D (2008) Interaction of heavy metals with the sulphur metabolism in angiosperms from an ecological point of view. *Plant Cell Env.* 31: 123-143.
- Fediuc E, Lips SH, Erdei L (2005) O-acetylserine (thiol) lyase activity in *Phragmites* and *Typha* plants under cadmium and NaCl stress conditions and the involvement of ABA in the stress response. *J. Plant Physiol.* 162: 865-872.
- Ferrat L, Pergent-Martini C, Romeo M (2003) Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality: application to seagrasses. *Aq. Tox.* 65: 187-204.
- Fojta M, Fojtova M, Havran L, Pivonkova H, Dorcak V, Sestakova I (2006) Electrochemical monitoring of phytochelatin accumulation in *Nicotiana tabacum* cells exposed to sub-cytotoxic and cytotoxic levels of cadmium. *Anal. Chim. Acta* 558: 171-178.
- Gadapati WR, Macfie SM (2006) Phytochelatins are only partially correlated with Cd-stress in two species of *Brassica*. *Plant Sci.* 170: 471-480.
- Gallego SM, Benavides MP, Tomaro ML (1996) Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidences for involvement of oxidative stress. *Plant Sci.* 121: 151-159.
- Gallego SM, Kogan MJ, Azpilicueta CE, Peña C, Tomaro ML (2005) Glutathione-mediated antioxidative mechanisms in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cells in response to cadmium stress. *Plant Growth Regul.* 46: 267-276.
- Gianazza E, Wait R, Sozzi A, Regondi S, Saco D, Labra M, Agradi E (2007) Growth and protein profile changes in *Lepidium sativum* L. plantlets exposed to cadmium. *Env. Exp. Bot.* 59: 179-187.
- Grill E, Winnacker EL, Zenk MH (1987) Phytochelatins, a class of heavy-metal-binding peptides from plants are functionally analogous to metallothioneins. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 84: 439-443.
- Grill E, Winnacker E, Zenk MH (1991) Phytochelatins. *Methods Enzymol.* 205: 333-341.
- Gupta DK, Tohyama H, Joho M (2002) Possible roles of phytochelatins and glutathione metabolism in cadmium tolerance in chickpea roots. *J. Plant Res.* 115: 429-437.
- Gupta DK, Tohyama H, Joho M, Inouhe M (2004) Changes in the levels of phytochelatins and related metal-binding peptides in chickpea seedlings exposed to arsenic and different heavy metal ions. *J. Plant Res.* 117: 253-256.
- Haag-Kerwer A, Schafer HJ, Heiss S, Walter C, Rausch T (1999) Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 50: 1827-1835.
- Han Y, Zhang J, Chen X, Gao Z, Xuan W, Xu S, Ding X, Shen W (2008) Carbon monoxide alleviates cadmium-induced oxidative damage by modulating glutathione metabolism in the roots of *Medicago sativa*. *New Phytol.* 177: 155-166.
- Harada E, Yamaguchi Y, Koizumi, N, Sano H (2002) Cadmium stress induces production of thiol compounds and transcripts for enzymes involved in sulfur assimilation pathways in *Arabidopsis*. *J. Plant Physiol.* 159: 445-448.
- Hart JJ, Welch RM, Norvell WA, Sullivan LA, Kochian LV (1998) Characterization of cadmium uptake, binding, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars. *Plant Physiol.* 116: 1413-1420.
- Heiss S, Wachter A, Bogs J, Cobbett C, Rausch T (2003) Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure. *J. Exp. Bot.* 54: 1833-1839.
- Henson MC, Chedrese PJ (2004) Endocrine Disruption by Cadmium, a Common Environmental Toxicant with Paradoxical Effects on Reproduction. *Exp. Biol. Med.* 229: 383-392.
- Hernández J, Garbisu C, Becerril J (2006) Synthesis of low molecular weight thiols in response to Cd exposure in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Env.* 29: 1422-1429.
- Higuchi K, Nishizawa NK, Yamaguchi H, Röheld H, Marschner H, Mori S (1995) Response of nictotianamine synthase activity to Fe-deficiency in tobacco plants as compared with barley. *J. Exp. Bot.* 46: 1061-1063.
- Homma Y, Hirata H (1984) Kinetics of cadmium and zinc absorption by rice seedling roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 30: 527-532.
- Jemal F, Didierjean L, Ghir R, Ghorbal MH, Burkard G (1998) Characterization of cadmium binding peptides from pepper (*Capsicum annum*). *Plant Sci.* 137: 143-154.
- Keltjens WG, van Beusichem ML (1998) Phytochelatins as biomarkers for heavy metal toxicity in maize: single metal effects of copper and cadmium. *J. Plant Nutr.* 21: 635-648.
- Kessler A, Brand MD (1995) The mechanism of the stimulation of state 4 respiration by cadmium in potato tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria. *Plant Physiol. Biochem.* 33: 519-528.
- Kim S, Takahashi M, Higuchi K, Tsunoda K, Nakanishi H, Yoshimura E, Mori S, Nishizawa

- NK (2005) Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants. *Plant Cell Physiol.* 46: 1809-1818.
- Klapheck S, Fliegner W, Zimmer I (1994) Hydroxymethyl-Phytochelatin [(γ -Glutamylcysteine)_n-Serine] Are Metal-Induced Peptides of the Poaceae. *Plant Physiol.* 104: 1325-1332.
- Klejduš B, Zehnálek J, Adam V, Petrek J, Kizek R, Vacek J, Trnková L, Rozik R, Havel L, Kubán V (2004) Sub-picomole high-performance liquid chromatographic/mass spectrometric determination of glutathione in the maize (*Zea mays* L.) kernels exposed to cadmium. *Anal. Chim. Acta.* 520: 117-124.
- Kneer R, Zenk M (1992) Phytochelatin protect plant enzymes from heavy metal poisoning. *Phytochemistry* 31: 2663-2667.
- Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakaniishi H, Mori S, Nishizawa NK (2004) OsYSL₂ is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and expressed in the phloem. *Plant J.* 39: 415-424.
- Lagriffoul A, Mocquot B, Mench M, Vangronsveld J (1998) Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.). *Plant Soil.* 200: 241-250.
- Larsson EH, Bornman JF, Asp H (1998) Influence of UV-B radiation and Cd₂ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* 49: 1031-1039.
- Liu M, Li PJ, Qi XM, Zhou QX, Zheng L, Sun TH, Yang YS (2005) DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis. *Chemosphere* 61: 158-167.
- Livingstone D (1993) Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 57: 195-211.
- Maier EA, Matthews RD, McDowell JA, Walden RR, Ahner BA (2003) Environmental Cadmium Levels Increase Phytochelatin and Glutathione in Lettuce Grown in a Chelator-Buffered Nutrient Solution. *J. Env. Qual.* 32: 1356-1364.
- Maksymiec W (2007) Signaling responses in plants to heavy metal stress. *Acta Physiol. Plant.* 29: 177-187.
- Maksymiec W, Krupa Z (2002) Jasmonate and heavy metals in *Arabidopsis* plants - a similar physiological response to both stressors?. *J. Plant Physiol.* 159: 509-515.
- Maksymiec W, Krupa Z (2006) The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. *Env. Exp. Bot.* 57: 187-194.
- Maksymiec W, Krupa Z (2007) Effects of methyl jasmonate and excess copper on root and leaf growth. *Biol. Plant.* 51: 322-326.
- Maksymiec W, Wianowska D, Dawidowicz AL, Radkiewicz S, Mardarowicz M, Krupa Z (2005) The level of jasmonic acid in *Arabidopsis thaliana* and *Phaseolus coccineus* plants under heavy metal stress. *J. Plant Physiol.* 162: 1338-1346.
- Maksymiec W, Wójcik M, Krupa Z (2007) Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate. *Chemosphere* 66: 421-427.
- Maruthi BBS, Dile SV, Han FX, Monts DL, Su Y (2005) Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). *Env. Exp. Bot.* 54: 131-141.
- Maslenkova LT, Zanev Y, Popova LP (1990) Oxygen-evolving activity of thylakoids from barley plants cultivated on different concentrations of jasmonic acid. *Plant Physiol.* 93: 1316-1320.
- Mazhoudi S, Chaoui A, Ghorbal MH, Ferjani EE (1997) Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). *Plant Sci.* 127: 129-137.
- Medici LO, Azevedo RA, Smith RJ, Lea PJ (2004) The influence of nitrogen supply on antioxidant enzymes in plant roots. *Funct. Plant Biol.* 31: 1-9.
- Melacon M (1995) *Handbook of Ecotoxicology*. CRC. Boca Raton, FL, EEUU. 755 pp.
- Mendoza DG, Moreno R (2006) Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants. *J. Theor. Biol.* 238: 919-936.
- Milone MT, Sgherri C, Clijsters H, Navari-Izzo F (2003) Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. *Env. Exp. Bot.* 50: 265-276.
- Mishra S, Srivastava S, Tripathi RD, Govindarajan R, Kuriakose SV, Prasad MNV (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.* 44: 25-37.
- Mohan BS, Hosetti BB (1997) Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilization ponds. *Env. Pollut.* 98: 233-238.
- Mukherjee S, Bhattacharyya P, Duttgupta AK (2004) Heavy metal levels and esterase variations between metal-exposed and unexposed duckweed *Lemna minor*: field and laboratory studies. *Env. Int.* 30: 811-814.
- Mullins GL, Sommers LE (1986) Cadmium and zinc influx characteristics by intact corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Soil* 96: 153-164.
- Obata H, Inoue N, Umebayashi M (1996) Effect of cadmium on plasma membrane ATPase from plant roots differing in tolerance to cadmium. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42: 361-366.
- Oven M, Raith K, Neubert RHH, Kutchan TM, Zenk MH (2001) Homo-Phytochelatin Are Synthesized in Response to Cadmium in Azuki Beans. *Plant Physiol.* 126: 1275-1280.
- Olmos E, Martínez-Solano JR, Piqueras A, Hellín E (2003) Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). *J. Exp. Bot.* 54: 291-301.
- Padmaja K, Prasad DDK, Prasad ARK (1990) Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica* 24: 399-405.
- Palus J, Rydzynski K, Dziubaltowska E, Wyszynska K, Natarajan AT, Nilsson R (2003) Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutat. Res.* 540: 19-28.
- Pianelli K, Mari S, Marques L, Lebrun M, Czernic P (2005) Nicotianamine over accumulation confers resistance to nickel in *Arabidopsis thaliana*. *Transgen. Res.* 14: 739-748.
- Pietrini F, Iannelli MA, Pasqualini S, Massacci A (2003) Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Plant Physiol.* 133: 829-837.
- Piqueras A, Olmos E, Martínez-Solano JR, Hellín E (1999) Cd-induced oxidative burst in tobacco BY2 cells: time-course, subcellular location and antioxidant response. *Free Radical Res.* 31: S33-S38.
- Pomponi M, Censi V, Di Girolamo V, De Paolis A, Di Toppi L, Aromolo R, Costantino P, Cardarelli M (2006) Overexpression of *Arabidopsis* phytochelatin synthase in tobacco plants enhances Cd²⁺ tolerance and accumulation but not translocation to the shoot. *Planta.* 223: 180-190.
- Pontier D, Gan S, Amasino RM, Roby D, Lam E (1999) Markers for hypersensitive response and senescence show distinct patterns of expression. *Plant Mol. Biol.* 39: 1243-1255.
- Prasad M, Malec P, Waloszek A, Bojko M, Strzałka K (2001) Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Sci.* 161: 881-889.
- Rai V, Khatoon S, Bisht SS, Mehrotra S (2005) Effect of cadmium on growth, ultramorphology of leaf and secondary metabolites of *Phyllanthus amarus* Schum. and Ton. *Chemosphere* 61: 1644-1650.
- Ranieri A, Castagna A, Sceba F, Careri M, Zagioni I, Predieri G, Pagliari M, Sanità di Toppi L (2005) Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 45-54.
- Rausser WE (2003) Phytochelatin-based complexes bind various amounts of cadmium in maize seedlings depending on the time of exposure, the concentration of cadmium and the tissue. *New Phytol.* 158: 269-278.
- Reyes R (1999) Las metalotioninas como biomarcadores de la contaminación ambiental por metales pesados en organismos acuáticos. *Interciencia* 24: 366-371.
- Reyes R, Salazar R, García E (2001) Incorporation of cadmium by *Acetabularia calyculus*. *Bull. Env. Contam. Toxicol.* 67: 749-755.
- Robinson N (1989) Algal metallothioneins: Secondary metabolites and proteins. *J. Appl. Phycol.* 1: 5-18.
- Rodríguez R, Fornazier RF, Vitória AP, Lea PJ, Antunes R (2002) Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. *J. Plant Nutr.* 25: 327-342.
- Romero-Puertas MC, Rodríguez-Serrano M, Corpas FJ, Gómez M, Del Río LA (2004) Cadmium-induced subcellular accumulation of O₂⁻ and H₂O₂ in pea leaves. *Plant Cell Env.* 27: 1122-1134.
- Romero-Puertas MC, Corpas FJ, Rodríguez-Serrano M, Gómez M, Del Río LA, Sandalio LM (2007) Differential expression and regulation of antioxidant enzymes by cadmium in pea plants. *J. Plant Physiol.* 164: 1346-1357.
- Salazar R, Reyes R (2000) Efectos tóxicos y mecanismos de tolerancia al cadmio en los seres vivos. *Universidad, Ciencia y Tecnología* 13: 17-22.
- Sandalio LM, Dalurzo HC, Gómez M, Romero-Puertas MC, Del Río LA (2001) Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52: 2115-2126.
- Schützendübel A, Polle A (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.* 53: 1351-1365.
- Shah K, Kumar RG, Verma S, Dubey RS (2001) Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* 161: 1135-1144.
- Shaw BP (1995) Effect of mercury and cadmium on the activities of antioxidant enzymes in the seedlings of *Phaseolus aureus*. *Biol. Plant.* 37: 587-596.
- Shojima S, Nishizawa NK, Fushiya S, Nozoe S, Irifune T, Mori S (1990) Biosynthesis of phytoalexins. In vitro biosynthesis of 2'-deoxymugineic acid from L-methionine and nicotianamine. *Plant Physiol.* 93: 1497-1503.
- Singh S, Eapen S, D'Souza SF (2006) Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidant system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere* 62: 233-246.

- Smeets K, Cuypers A, Lambrechts A, Semane B, Hoet P, Laere AV, Vangronsveld J (2005) Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 437-444.
- Sneller FEC, Noordover ECM, Bookum WMT, Schat H, Bedaux JJM, Verkleij JAC (1999) Quantitative Relationship between Phytochelatin Accumulation and Growth Inhibition during Prolonged Exposure to Cadmium in *Silene vulgaris*. *Ecotoxicology* 8: 167-175.
- Soloiz M, Vulpe C (1996) CPx-type ATPases: a class of P-type ATPases that pump heavy metals. *Trends Biochem. Sci.* 21: 237-241.
- Stolt JP, Sneller FEC, Bryngelsson T, Lundborg T, Schat H (2003) Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat. *Env. Exp. Bot.* 49: 21-28.
- Srivastava S, Tripathi RD, Dwivedi UN (2004) Synthesis of phytochelatin and modulation of antioxidants in response to cadmium stress in *Cuscuta reflexa* - an angiospermic parasite. *J. Plant Physiol.* 161: 665-674.
- Steffens J (1990) The heavy metal-binding peptides of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 553-575.
- Sun Q, Wang XR, Ding SM, Yuan XF (2005) Effects of exogenous organic chelators on phytochelatin production and its relationship with cadmium toxicity in wheat (*Triticum aestivum* L.) under cadmium stress. *Chemosphere* 60: 22-31.
- Taiz L, Zeiger E (2006) *Plant Physiology*. 4a ed. Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. 764 pp.
- Ueda J, Kato J (1980) Isolation and identification of senescence-promoting substances from wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Plant Physiol.* 66: 246-249.
- Van Assche F, Clijsters H (1990) Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Env.* 13: 195-206.
- van der Oost R, Goksøyr A, Celander M, Heida H, Vermeulen NPE (1996) Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) II. Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. *Aq. Toxicol.* 36: 189-222.
- Walia H, Wilson C, Condamine P, Liu X, Ismail A, Close T (2007) Large-scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid-mediated adaptation of barley to salinity stress. *Plant. Cell Env.* 30: 410-421.
- Wang XF, Zhou QX (2005) Ecotoxicological effects of cadmium on three ornamental plants. *Chemosphere* 60: 16-21.
- Wang M, Zou J, Duan X, Jiang W, Liu D (2007) Cadmium accumulation and its effects on metal uptake in maize (*Zea mays* L.). *Bioresource Technol.* 98: 82-88.
- Weber M, Harada E, Vess C, von Roepenack-Lahaye E, Clemens S (2004) Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors. *Plant J.* 37: 269-281.
- Weisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D (2003) Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 192: 95-110.
- Wojcik M, Tukiendorf A (2004) Phytochelatin synthesis and cadmium localization in wild type of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regul.* 44: 71-80.
- Wojcik M, Vangronsveld J, Tukiendorf A (2005) Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*: I. Growth parameters, metal accumulation and phytochelatin synthesis in response to cadmium. *Env. Exp. Bot.* 53: 151-161.
- Wu FB, Chen F, Wei K, Zhang GP (2004) Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance. *Chemosphere* 57: 447-454.
- Xiong ZT, Peng YH (2001) Response of Pollen Germination and Tube Growth to Cadmium with Special Reference to Low Concentration Exposure. *Ecotoxicol. Env. Saf.* 48: 51-55.
- Zhang H, Jiang Y, He Z, Ma M (2005) Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). *J. Plant Physiol.* 162: 977-984.
- Zhou W, Qiu B (2005) Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae). *Plant Sci.* 169: 737-745.

BIOMARKERS OF CADMIUM POLLUTION IN PLANTS

Beatriz Pernía, Andrea De Sousa, Rosa Reyes and Marisol Castrillo

SUMMARY

Due to the vital role of plants in ecosystems, these organisms have been used for diagnosis or prediction of negative consequences of anthropogenic activities through the study of their physiological processes, biochemical responses, mechanisms of adaptation and mortality. The organism responses as a result of the effects of polluting agents have been named biomarkers, which can be defined as biochemical, cellular, physiological or behavior changes that can be measured in the cells, corporal fluids and/or at level of complete organism. They offer evidence of the presence of one or more pollutants. Biomarkers offer complete and biologically relevant information on the potential impact of toxic polluting agents upon the health of organisms.

They have the advantage of making evident early symptoms of damage caused by the polluting agent and, therefore, they can be used as early warning signals of the presence of chemical pollutants. This work analyzes information concerning plants as possible bioindicators of contamination by cadmium and the biomarkers that can be used for environmental management. To this end, cadmium as an environmental polluting agent is described, as also are its biogeochemical cycle, natural and anthropogenic sources, its effects on plants and the environment, and, finally, the main molecular responses of plants as early warning signals of the damage generated by cadmium and its use in the management of contamination by this heavy metal.

BIOMARCADORES DE CONTAMINAÇÃO POR CÁDMIO NAS PLANTAS

Beatriz Pernía, Andrea De Sousa, Rosa Reyes e Marisol Castrillo

RESUMO

Devido à função vital que desempenham as plantas nos ecossistemas, estes organismos têm sido utilizados para a diagnose ou predição das consequências negativas de atividades antropogênicas mediante o estudo de seus processos fisiológicos, respostas bioquímicas, mecanismos de adaptação e mortalidade. As respostas que têm lugar nos organismos, como consequência do efeito de um contaminante, têm sido denominadas biomarcadores. Estes podem definir-se como as variações bioquímicas, celulares, fisiológicas ou comportamentais que podem ser medidas no tecido, nos fluidos corporais e/ou ao nível do organismo completo, e brindam evidência da exposição a um ou mais componentes químicos. Os biomarcadores oferecem informação completa e biologicamente relevante sobre o potencial impacto dos contaminantes tóxicos

na saúde dos organismos. Têm a vantagem de por em evidência sintomas prematuros do dano causado pelo contaminante e, por tanto, podem ser utilizados como sinais de alarme ante a presença de contaminantes químicos. Neste trabalho se analisa informação referente às plantas como possíveis bioindicadores de contaminação por cádmio e dos biomarcadores que podem ser utilizados para monitoração ambiental. Para este fim, se descreve ao Cd como contaminante ambiental, se apresenta seu ciclo biogeoquímico, as fontes naturais e antropogênicas, e seus efeitos sobre as plantas e o meio ambiente. Seguidamente se apresentam as principais respostas moleculares das plantas como sinais de alarme prematuros do dano gerado por Cd e se propõe seu uso na monitoração da contaminação por este metal.