

Mecanismos de resistencia a metales pesados en *Erica andevalensis*

B. Márquez-García¹

(1) Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública. Universidad de Huelva, Huelva, España.

➤ Recibido el 7 de agosto de 2009, aceptado el 13 de agosto de 2009.

Márquez-García, B. (2009). Mecanismos de resistencia a metales pesados en *Erica andevalensis*. *Ecosistemas* 18(3):000-000.

Erica andevalensis, Cabezudo y J. Rivera (**Fig. 1**), es un brezo endémico del suroeste de la Península Ibérica que se caracteriza por vivir en suelos ácidos y ricos en metales pesados, en la zona conocida como la Faja Pirítica Ibérica.



Figura 1. Detalle de las flores de *Erica andevalensis*

En esta tesis se planteó el objetivo principal de mejorar la comprensión de los mecanismos de tolerancia a metales pesados de *E. andevalensis* a nivel metabólico y fisiológico. Este objetivo principal se subdividió en 5 objetivos parciales, que se resumen a continuación: 1) Elección de poblaciones silvestres de *E. andevalensis* representativas de los distintos medios en los que la especie crece y análisis el contenido de metales tanto en las hojas de la planta como en los suelos donde la planta crece; 2) Estudio de los mecanismos de respuesta antioxidante de *E. andevalensis* a nivel de metabolitos, enzimas y marcadores directos de estrés oxidativo en las poblaciones silvestres; 3) Cultivo de plantas de *E. andevalensis* en el laboratorio, utilizando técnicas de micropropagación y de germinación de semillas; 4) Estudio de la influencia de factores extrínsecos (temperatura) e intrínsecos (ácido giberélico) sobre la tasa de germinación de *E. andevalensis*; y 5) Análisis del

efecto del Cd, como representativo de un metal no esencial y extremadamente tóxico, en los niveles de ácido ascórbico y glutatión en individuos de *E. andevalensis* cultivados en el laboratorio.

Siguiendo los objetivos planteados, se realizaron, en primer lugar, muestreos de campo para analizar la distribución de la especie en la provincia de Huelva, y se analizó el contenido de metales en el suelo donde crece la especie y en los tejidos aéreos de la planta, en los que se midieron concentraciones elevadas de Fe, Zn y Mn. A partir de análisis bioquímicos realizados en hojas recolectadas en individuos silvestres de *E. andevalensis*, se vio que esta especie se caracteriza por poseer niveles inferiores de ácido ascórbico y compuestos fenólicos que otras especies de su mismo género (*E. australis* y *E. arborea*). Ante un aumento de metales pesados en el medio, el mecanismo de defensa de la planta incrementa la actividad de enzimas con actividad peroxidasa, principalmente la ascorbato peroxidada. Esta es una enzima importante en los mecanismos antioxidantes de las plantas (Conklin, 2001). Los metales pesados, que en el interior de los tejidos vegetales pueden producir moléculas muy reactivas, denominadas especies reactivas de oxígeno que atacan a lípidos, proteínas y ADN, provocando así estrés oxidativo (Briat, 2002), no parecen afectar seriamente a *E. andevalensis*, como indican la relación entre la clorofila a y la b y los bajos niveles de peroxidación lipídica encontrados. Por otro lado, las fitoquelatinas, pequeños péptidos que en plantas tienen la función de quelar metales en el interior de las células, para así evitar que produzcan daños, no parecen estar implicadas en la defensa frente a metales en *E. andevalensis*, ya que a pesar de crecer en suelos con concentraciones altas de metales y tener metales acumulados en las hojas, la concentración de fitoquelatinas encontrada es muy baja. Cuando la especie se cultivó en el laboratorio en ausencia de metales y se expuso posteriormente a concentraciones crecientes de Cd, no se registraron cambios en los niveles de glutatión en las hojas, dato que apoya la no implicación de las fitoquelatinas en la defensa de *E. andevalensis* frente a metales. La acumulación de Cd en el interior de la planta aumentó al incrementar la concentración de Cd a la que las plantas fueron expuestas. Se vio como, a la mayor concentración de Cd expuestas, 50 ppm, otros sistemas antioxidantes no vinculados con el ciclo del ascorbato/glutatión se activan en *E. andevalensis* debido al aumento de la capacidad antioxidante total, sin aumentar los niveles de ascorbato ni glutatión.

Como parte de los estudios realizados en esta tesis doctoral, se consiguió cultivar por primera vez la especie bajo condiciones controladas de laboratorio, punto que tiene gran importancia dado que es una especie catalogada como “en peligro de extinción” en la legislación autonómica (Aparicio 1999). Por un lado, se desarrolló un protocolo de micropropagación de la misma, en el que a partir de fragmentos de tallo se consiguió la regeneración de plantas maduras. Por otro lado, se realizaron estudios de germinación de semillas, que pusieron de manifiesto que condiciones de pH muy ácido, pH 2, y concentraciones elevadas de Fe estimulan la germinación, así como el crecimiento inicial de las plántulas (crecimiento seguido durante 10 días). Sin embargo, el crecimiento se vio afectado a concentraciones elevadas de todos los metales ensayados (Fe, Mn, Cu y Zn). Paralelamente, se realizó un estudio del efecto del tratamiento de frío en la germinación de las semillas de *E. andevalensis*, donde se vio que la tasa de germinación aumentó al aumentar el tiempo que éstas son mantenidas en frío. Ha sido la primera vez que se ha descrito el cultivo de *E. andevalensis* bajo condiciones controladas de laboratorio en tierra partiendo de semillas. Hemos observado que es una especie que se desarrolla mejor y crece más rápido en suelos ácidos (de brezos) frente a sustratos normales en condiciones controladas de laboratorio. El ácido giberélico (GA₃) estimula la germinación de *E. andevalensis* y afecta al desarrollo inicial de las plantas cuando se aplica en elevadas concentraciones. Una visión global de los resultados obtenidos revelan que *E. andevalensis* es una especie adaptada al medio en el que vive. Estos resultados podrían ser aplicados en la elaboración de futuros planes de conservación de dicha especie.

Referencias

Aparicio, A. 1999. *Erica andevalensis* Cabezudo y Rivera. En: Blanca, G., Cabezudo, B., Hernández-Bermejo, J.E., Herrera, C.M., Molero-Mesa, J., Muñoz, J., Valdés, B. (Eds.), *Libro rojo de la Flora Amenazada de Andalucía*, pp 119-122, Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, España.

Briat, J.F. 2002. Metal ion-activated oxidative stress and its control. En: Inzé, D., Montagu, M. (Eds.), *Oxidative stress in plants*, pp 171-189, Taylor and Francis, London, UK.

Conklin, P.L. 2001. Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. *Plant, Cell and Environment* 24:383-394.

BELÉN MÁRQUEZ GARCÍA

Mecanismos de resistencia a metales pesados en *Erica andevalensis*

Tesis Doctoral (Mención de doctorado europeo)

Departamento de Biología Ambiental Y Salud pública, Universidad de Huelva.

Marzo 2009

Dirección: Dr. Francisco Córdoba García y Dr. Pablo J Hidalgo Fernández.

Publicaciones resultantes de la tesis:

Márquez-García, B., Hidalgo, P.J., Heras, M.A., Velasco, R., Córdoba, F. 2004. *Erica andevalensis*: un brezo endémico y en peligro de extinción en Huelva. II Jornadas Técnicas de Ciencias Ambientales, Vol. 1, pp. 1-19, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Márquez-García, B., Hidalgo, P.J., Córdoba, F. 2006. How does the plant *Erica andevalensis* survive despite the highly elevated soil metal contamination? *Setac Globe, Learned Discourses* 7(1):37-38

Márquez-García, B., Fernández, M.A., Córdoba, F. 2009. Phenolics composition in *Erica sp.* differentially exposed to metal pollution in the Iberian Southwestern Pyritic Belt. *Bioresource Technology* 100:446-451.

Márquez-García, B., Hidalgo, P.J., Córdoba, F. 2009. Effect of different media composition on the micropropagation of *Erica andevalensis*, a metal accumulator species growing in mining areas (SW Spain). *Acta Physiologiae Plantarum* 31:661-666.

Márquez-García, B., Córdoba, F. 2009. Antioxidative system and oxidative stress markers in wild populations of *Erica australis* L. differentially exposed to pyrite mining activities. *Environmental Research* 109:968-974

Márquez-García, B., Muñoz, A., Córdoba, F. 2009. Germination requirements of *Erica andevalensis*, an endemic species restricted to acid and metal/metalloid-enriched soils of the Iberian Pyrite Belt (SW Iberian Peninsula). *Fresenius Environmental Bulletin* 18:2268-2274

Márquez-García, B., Córdoba, F. 2010. Antioxidative system in wild populations of *Erica andevalensis*. *Environmental and Experimental Botany* 68:58-65