

---

# EL DAÑO POR OXIDACIÓN CAUSADO POR COBRE Y LA RESPUESTA ANTIOXIDANTE DE LAS PLANTAS

JANET MARÍA LEÓN MORALES  
y GABRIELA SEPÚLVEDA-JIMÉNEZ

---

## RESUMEN

Los desechos industriales y agrícolas son la principal fuente de acumulación de cobre en el suelo. El cobre es un micronutriente esencial de las plantas que es requerido para su crecimiento y participa en reacciones de oxidación-reducción. Sin embargo, se convierte en un metal tóxico cuando se encuentra en los tejidos a concentraciones más altas a las necesarias para el crecimiento vegetal ( $>30\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). El cobre promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), en forma enzimática y no enzimática (a través de la reacción de Fenton), las cuales pueden causar la oxidación de proteínas y lípidos, alterar la integridad de las membranas, la fotosíntesis, el crecimiento e inducir la muerte celular. Entre los mecanismos bioquímicos de defensa que se inducen en respuesta al daño

oxidativo causado por cobre está el incremento de las actividades de enzimas antioxidantes tales como catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa, ascorbato y guaiacol peroxidasa. Algunos estudios indican que metabolitos secundarios antioxidantes como ácidos fenólicos, poliaminas y flavonoles también podrían estar involucrados en contrarrestar el daño por oxidación generado por cobre. Debido a la relevancia del daño que causa en las plantas la exposición a niveles tóxicos de cobre, en este artículo se hace una revisión de los estudios realizados desde 2000 hasta 2012, que muestra los procesos bioquímicos y fisiológicos que son afectados en las plantas por el estrés oxidativo inducido por el metal y de los mecanismos antioxidantes que participan en la defensa al exceso de cobre.

El cobre es un elemento esencial en la nutrición mineral de las plantas, requerido en concentraciones trazas para completar su ciclo de vida (Taiz y Zeiger, 2010). El cobre participa en la catálisis de reacciones de oxidación-reducción y forma parte como grupo prostético de enzimas que participan en procesos fundamentales para las plantas, tales como el transporte de electrones en la fotosíntesis y la respiración. Otras enzimas que requieren del cobre son las que catalizan las reacciones de lignificación de la pared celular y de la destoxificación de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Ejemplos de estas enzimas son la plastocianina, citocromo oxidasa, ti-

rosinasa, lacasa, diamina oxidasa, D-galactosa oxidasa, polifenol oxidasa, ascorbato oxidasa y superóxido dismutasa (Fernandes y Henriques, 1991; Maksymiec, 1997).

Las plantas realizan sus funciones de forma normal con concentraciones de 5-30mg de cobre por kg de tejido en peso seco (Orcutt y Nilsen, 2000). Niveles superiores de cobre son considerados tóxicos, ya que afectan el crecimiento y la fotosíntesis (Maksymiec, 1997). Debido a sus características de óxido-reducción, el cobre cataliza la formación de ERO provocando la oxidación de componentes celulares. Los radicales hidroxilo ( $\text{OH}\cdot$ ) producidos pueden iniciar la peroxidación de lípidos, modificando la

estructura de las membranas celulares (Maksymiec *et al.*, 1994; Yruela, 2005).

En respuesta al daño oxidativo causado por el cobre, en las plantas hay incrementos en la expresión de genes y la actividad de enzimas antioxidantes. Algunos estudios muestran también la participación de metabolitos secundarios antioxidantes. En este artículo se presenta una revisión de los avances en los últimos doce años sobre los procesos bioquímicos y fisiológicos que son afectados por el cobre en las plantas, los mecanismos para evitar la absorción del metal o su translocación, y la inducción de la defensa antioxidante en respuesta al estrés por cobre.

---

**PALABRAS CLAVE / Cobre / Defensa Antioxidante / ERO / Metabolitos Secundarios / Tolerancia /**

Recibido: 27/6/2012. Modificado: 28/09/2012. Aceptado: 01/11/2012.

**Janet María León Morales.** Maestra en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México. Estudiante de Doctorado en Ciencias, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional (CeProBi-IPN), México. e-mail: jleonm0800@ipn.mx

**Gabriela Sepúlveda Jiménez.** Doctora en Ciencias, Universidad Autónoma de México. Investigadora, CeProBi-IPN, México. Dirección: Departamento de Biotecnología, CeProBi-IPN. Apartado Postal 24. Carretera Yautepec-Jojutla Km. 8.5. Yautepec, Morelos. México. C.P. 62730. e-mail: gsepulvedaj@ipn.mx

---

TABLA I  
CONTENIDO DE COBRE EN SUELOS CONTAMINADOS DE DIFERENTES PARTES DEL MUNDO

Fuente	Concentración de cobre	Referencia
Procesos naturales (Baja California, México)	Sedimentos (10-50mg·kg <sup>-1</sup> )	Rosales <i>et al.</i> , 1994
Riego con aguas residuales en suelos agrícolas (Hidalgo, México)	Irrigados (40-95mg·kg <sup>-1</sup> ) No irrigados (22-45mg·kg <sup>-1</sup> )	Flores-Delgado <i>et al.</i> , 1992
Riego con aguas residuales en suelos agrícolas (China)	Irrigados (67-101mg·kg <sup>-1</sup> ) No irrigados (22mg·kg <sup>-1</sup> )	Cao y Hu, 2000
Suelos de campos petroleros (Tabasco, México)	Contaminado (660mg·kg <sup>-1</sup> ) No contaminado (480mg·kg <sup>-1</sup> )	De la Cruz-Landero <i>et al.</i> , 2010
Mina de Pb, Zn, Ag (Hidalgo, México)	Dentro de 1000m (8638mg·kg <sup>-1</sup> ) Mayor a 4000m (<30mg·kg <sup>-1</sup> )	Ongley <i>et al.</i> , 2003
Mina de Ag, Au, Pb, Cu, Zn, Mn (San Luis Potosí, México)	Suelo (15-7200mg·kg <sup>-1</sup> ) Sedimentos (71-2190mg·kg <sup>-1</sup> )	Razo <i>et al.</i> , 2004
Mina de plata (Guanajuato, México)	Suelos cercanos (221mg·kg <sup>-1</sup> ) Suelos lejanos (17mg·kg <sup>-1</sup> )	Landero <i>et al.</i> , 2008
Mina de Cu (Irán)	Centro de la mina (1132mg·kg <sup>-1</sup> ) 9,2km al sur de la mina (36,18mg·kg <sup>-1</sup> )	Boojar y Farah, 2011
Uso de fungicidas en viñedos (Francia)	10 viñedos (38-251mg·kg <sup>-1</sup> ) Parcelas forestales (20-26mg·kg <sup>-1</sup> )	Brun <i>et al.</i> , 2001
Uso de fungicidas en viñedos (Brasil)	Contaminado-40 años (1019,1mg·kg <sup>-1</sup> ) No contaminado (49,8mg·kg <sup>-1</sup> )	Mirlean <i>et al.</i> , 2007
Uso de fungicidas en viñedos (Australia)	Contaminado <30 años (250mg·kg <sup>-1</sup> ) No contaminado (<20mg·kg <sup>-1</sup> )	Pietrzak y Uren, 2011

### Contenido de Cobre en la Corteza Terrestre

La concentración de cobre en la corteza terrestre se encuentra entre 20-30mg de cobre por kg de suelo (Wedepohl, 1990); pero en suelos de diferentes partes del mundo el nivel de cobre se eleva a más de 50mg·kg<sup>-1</sup> debido a la actividad minera, la industria petrolera, al uso de aguas residuales sin tratamiento para el riego de suelos agrícolas y al uso de fungicidas en la agricultura (Tabla I).

El cobre en el suelo no siempre se encuentra totalmente disponible para su absorción por las plantas, debido a que puede estar formando complejos insolubles con la materia orgánica, con arcillas o con aniones como CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> y S<sup>2-</sup>, dependiendo de características del suelo tales como el pH, la capacidad de intercambio de cationes y la presencia de materia orgánica (Krauskopf, 1983). Sin embargo, la solubilidad del cobre puede incrementar en suelos acidificados por la presencia de plantas, por medio de la liberación de protones a la rizosfera a través de las enzimas H<sup>+</sup>-ATPasas localizadas en la membrana plasmática de las células vegetales (Palmer y Guerinot, 2009).

### Absorción y Transporte del Cobre en las Plantas

La absorción de iones en las plantas comienza en la epidermis de la raíz. El movimiento de los iones desde la epidermis a la endodermis de la raíz tiene

lugar por difusión apoplástica, hasta que es interrumpida por la presencia de la banda de Caspari (Hopkins, 1995). El cobre es absorbido por las plantas como ion divalente (Cu<sup>2+</sup>) en suelos aireados y en su forma monovalente (Cu<sup>+</sup>) en suelos húmedos con bajas concentraciones de oxígeno (Salisbury y Ross, 1991). El transporte de cobre a través de la membrana plasmática es por medio de canales o transportadores, que es la única vía para pasar a través de la endodermis y llegar al tejido vascular (Hopkins, 1995). Al respecto, ya se identificaron algunas proteínas transportadoras. En *Arabidopsis thaliana*, el cobre es transportado como Cu<sup>+</sup> por el transportador COPT1 (Sancenón *et al.*, 2004). Se ha sugerido que la absorción del cobre como Cu<sup>2+</sup> es a través de transportadores tipo ZIP (Pilon, 2011). El cobre se mueve al periciclo de la raíz donde puede ser transportado al xilema a través del transportador HMA5, que pertenece a la familia de ATPasas tipo P, implicadas también en el transporte de metales pesados como el Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> y Pb<sup>2+</sup> (Solió y Vulpe, 1996; Palmer y Guerinot, 2009).

Por último, la translocación de cobre de la raíz a las hojas a través del xilema aparentemente se lleva a cabo de forma pasiva por la corriente de la transpiración, al igual que todos los micronutrientes (Tiffin, 1983). Sin embargo, en plántulas de *Ricinus communis* el cobre es transportado vía floema, posiblemente a través de su asociación con la nicotianamina, un aminoácido no proteínico (Schmidke y Stephan, 1995).

### Efectos Tóxicos del Cobre en las Plantas

El cobre, a concentraciones ligeramente superiores a las requeridas por las plantas (30mg·kg<sup>-1</sup> de tejido en peso seco), produce efectos tóxicos tales como la inhibición del crecimiento en raíces y brotes (Pasternak *et al.*, 2005; Groppa *et al.*, 2008; Lequeux *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2010).

En las raíces, la inhibición del crecimiento por el cobre puede ser resultado de una reducción en el proceso de división celular y del daño estructural o muerte de las células del meristemo apical (Jiang *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2009). Por otra parte, la reducción en el tamaño celular por el cobre ocasiona una contracción del diámetro de raíces y tallos, y una disminución en el crecimiento de hojas, lo que indica que el cobre también afecta el proceso de expansión celular (Pasternak *et al.*, 2005; Kasim, 2006). La capacidad de expansión de la célula puede ser reducida con el incremento en la lignificación y rigidez de la pared celular. El cobre estimula la actividad de coniferil alcohol peroxidasa y ácido indolacético oxidasa en diferentes compartimentos celulares de las raíces, lo que sugiere que el crecimiento se inhibe como resultado del incremento en la lignificación de la pared celular y en el catabolismo de auxinas (Chaoui *et al.*, 2004).

La inhibición del crecimiento de la raíz principal generalmente

va acompañada de una reducción de la zona de elongación y de un incremento en la formación de raíces laterales o de pelos radiculares que se desarrollan lejos del meristemo apical. Este re-arreglo en la arquitectura de las raíces involucra cambios en la distribución de auxinas y citocininas, y en el metabolismo de ERO (Pasternak *et al.*, 2005; Lequeux *et al.*, 2010).

La exposición de las plantas a cobre disminuye la productividad de granos, debido probablemente a un cierre de los estomas, que afecta el intercambio de gases y el transporte de electrones de la fotosíntesis (Kasim, 2006). Al respecto, el cobre bloquea el transporte de electrones en diferentes sitios del fotosistema II, a nivel del centro de reacción, de la quinona ( $Q_B$ ) y de la tirosina de la proteína D1 (Hsu y Lee, 1988; Mohanty *et al.*, 1989; Schröder *et al.*, 1994). En el fotosistema I, el cobre interactúa con la ferredoxina inhibiendo la fotorreducción del  $NADP^+$  (Shioi *et al.*, 1978). La función de los fotosistemas también es modificada por los cambios en la composición de lípidos, acompañados con una disminución de la fluidez de la membrana tilacoide (Maksymiec *et al.*, 1994; Quartacci *et al.*, 2000). La reducción por cobre de los contenidos de clorofilas y carotenoides también afecta la eficiencia fotosintética (Luna *et al.*, 1994; Burzyński y Klobus, 2004; Khatun *et al.*, 2008). El cobre inhibe la actividad *in vitro* de la enzima ácido  $\delta$ -aminolevulínico deshidratasa, involucrada en la síntesis de los anillos de porfirinas de las clorofilas (Scarponi y Perucci, 1984). El cobre también altera el transporte de hierro a las hojas y esto puede disminuir la síntesis de clorofilas (Price y Carell, 1964; Burzyński y Klobus, 2004). La reducción de pigmentos fotosintéticos da como resultado un aspecto clorótico característico de las hojas en las plantas que crecen en exceso de cobre (Drazkiewicz *et al.*, 2004; Tewari *et al.*, 2006). Las enzimas ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa y la fosfoenolpiruvato carboxilasa de la fijación de carbono reducen su actividad en la presencia de cobre (Stiborová *et al.*, 1987).

El cobre reprime también la fotosíntesis a nivel genético, ya que disminuye la expresión de los genes que codifican para la subunidad grande de la enzima ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa oxigenasa, las proteínas de unión a clorofila a-b, los citocromos b/b6 y de proteínas del centro de reacción de los fotosistemas I y II (Sudo *et al.*, 2008).

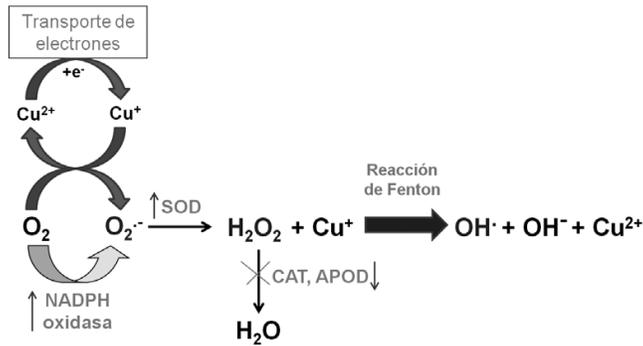


Figura 1. Vías de generación de especies reactivas de oxígeno en plantas tratadas con cobre. SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, APOD: ascorbato peroxidasa. La dirección de las flechas indica las enzimas antioxidantes que son (†) inducidas o (‡) reprimidas por el cobre.

El cobre promueve la generación de ERO ( $O_2^{\cdot-}$ , anión superóxido;  $H_2O_2$ , peróxido de hidrógeno y  $OH^{\cdot}$ , radicales hidroxilo) por medio de varios mecanismos (Figura 1). Uno de ellos ocurre durante el acarreo de electrones en la fotosíntesis. Por ejemplo, los electrones de la plástiquinona son aceptados por el cobre y transferidos al oxígeno lo que genera  $O_2^{\cdot-}$ . Otros mecanismos son la inducción de la actividad de las enzimas NADPH oxidasa y superóxido dismutasa (SOD), la reacción de Fenton y la reducción de la actividad de las enzimas del sistema antioxidante (Urbański y Beręsewicz, 2000; Babu *et al.*, 2001; Drazkiewicz *et al.*, 2003; 2004; Maksymiec y Krupa, 2006; Bouazizi *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010). La oxidación de lípidos y proteínas es un indicador del daño oxidativo generado por el exceso de cobre (Cuypers *et al.*, 2000; Ali *et al.*, 2006; Tewari *et al.*, 2006). La peroxidación de lípidos y la liberación extracelular de potasio, son indicativos del daño en la membrana plasmática por exposición a cobre (Kováčik *et al.* 2008a). La pérdida de la integridad de la membrana celular también se relaciona con una acumulación de ERO y peroxidación de lípidos (Wang *et al.*, 2011). Las lipooxigenasas implicadas en la peroxidación de lípidos (Skorsyńska-Polit, 2007) aumentan su actividad en función de la concentración de cobre y con el aumento de los niveles de ERO (Khatun *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011).

La muerte celular en las raíces es resultado de la acumulación de cobre (Yeh *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2009; Lequeux *et al.*, 2010; Lehotai *et al.*, 2011). La necrosis se ocasiona por un nivel alto de ERO, pero una muerte celular programada también podría ser inducida por la presencia de las ERO como ocurre bajo diferentes condiciones de estrés (Pellinen *et al.*, 2002;

Van Breusegem y Dat, 2006). El pre-tratamiento de raíces con choque térmico moderado reduce la producción de ERO inducida por cobre y la muerte celular (Chen *et al.*, 2008).

### Mecanismos para Evitar y Tolerar el Estrés por Cobre

Uno de los mecanismos externos de protección al cobre en las plantas es la interacción de las raíces con hongos micorrízicos. En plantas inoculadas con hongos ectomicorrízicos y tratadas con cobre, no hay inhibición del crecimiento de las raíces y el transporte del metal

a la parte aérea es menor que en las plantas sin micorrizas (Van Tichelen *et al.*, 2001).

La retención del cobre en la pared celular de las raíces (Chen *et al.*, 2004) podría deberse a la unión covalente del metal a los átomos de oxígeno de la lignina y la celulosa, regulando su absorción a través de la membrana plasmática (Orcutt y Nilsen, 2000). Algunas plantas como *Arabidopsis thaliana* exudan ácidos orgánicos como el citrato en respuesta al estrés por cobre (Murphy *et al.*, 1999), que a su vez pueden formar complejos con el metal o cambiar el pH de la rizósfera y alterar la absorción del cobre (López-Bucio *et al.*, 2000). Cuando las concentraciones internas de cobre son altas, hay plantas que no translocan el metal a la parte aérea (Russo *et al.*, 2008). En otras plantas, el exceso de cobre es almacenado en las vacuolas de las hojas (Boojar y Goodarzi, 2007) y un mecanismo de tolerancia al cobre es el transporte más eficiente del metal a las vacuolas (Ke *et al.*, 2007). La unión del cobre a otras moléculas (quelación) es una forma de mantener el metal en una baja concentración en el citosol. Los ligandos de alta afinidad por cobre son ácidos orgánicos (málico, cítrico, oxálico), aminoácidos (prolina, histidina, asparagina y cisteína), péptidos (glutatión y fitoquelatinas) y metalotioneínas (Hall, 2002; Sharma y Dietz, 2006). La histidina y la prolina que actúan como ligandos de cobre se encuentran en el xilema de la especie *Brassica carinata* (Irtelli *et al.*, 2009). La acumulación de fitoquelatinas se induce a concentraciones tóxicas de cobre (Schat *et al.*, 2002) y la sobreexpresión del gen *PsMT<sub>A1</sub>* que codifica para una proteína tipo metalotioneína incrementa en las plantas la capacidad para translocar y acumular cobre en las hojas (Turchi *et al.*, 2012).

## Expresión de Genes y Perfil de Proteínas en Respuesta al Estrés por Cobre

Los estudios de expresión genética y de perfil de proteínas muestran que ante el estrés por cobre, muchos procesos fisiológicos y bioquímicos son alterados y que la respuesta de las plantas es un proceso complejo (Li *et al.*, 2009). En hojas de plantas de *Oriza sativa* hay un incremento en la expresión de 146 genes en respuesta al cobre. La mayoría son genes de defensa, respuesta a estrés, transducción de la señal y metabolismo. Dentro de los genes relacionados con la defensa están los que codifican para proteínas tipo metalotioneína y peroxidasa. La expresión de genes que codifican para enzimas involucradas en la síntesis de flavonoides y fitoalexinas y lignina también aumenta por la exposición a exceso de cobre (Sudo *et al.*, 2008). Sin embargo, en plantas de *Medicago sativa* se muestra que la acumulación de isoflavonoides en respuesta a la exposición a cobre se debe principalmente a la hidrólisis de conjugados almacenados y no a la inducción de su biosíntesis (Parry *et al.*, 1994). En *Elsholtzia splendens* se identificaron 45 proteínas en raíces y seis proteínas en hojas que aumentaron o disminuyeron su contenido en respuesta a cobre. Los procesos biológicos en los que estas proteínas participan son muy diversos como metabolismo, transporte, regulación de procesos biológicos, homeostasis redox y respuesta a estrés (Li *et al.*, 2009). En los estudios anteriores, el cobre es transportado a hojas y la respuesta es el resultado del efecto directo del cobre en este órgano. Sin embargo, en *Phaseolus vulgaris* y *Brassica napus* también se observan respuestas de defensa en las hojas cuando el metal no está presente o si aún no es translocado a las hojas (Cuypers *et al.*, 2000; Russo *et al.*, 2008), lo cual indica que son necesarios estudios para identificar las señales de estrés percibidas por las hojas, así como los genes y proteínas que son activados en la parte aérea en respuesta a dichas señales.

Los genes de proteínas relacionadas a patogénesis (PR) son inducidas en respuesta al cobre. En plantas incubadas con cobre incrementa la expresión de genes que codifican para precursores de endoquitinasa A,  $\beta$ -1,3-glucanasa, inhibidor de xilanasas y proteínas de transferencia de lípido no específica

(Sudo *et al.*, 2008). En tallos de *Capsicum annuum*, el cobre induce la expresión de los genes que codifican para las proteínas PR1,  $\beta$ -1,3-glucanasa, peroxidasa y una sesquiterpeno ciclase involucrada en la biosíntesis de la fitoalexina capsidiol. Así mismo, cuando las plantas de *C. annuum* son pre-tratadas con cobre muestran menos daños causados por la inoculación con el patógeno *Verticillium dahliae*, lo que sugiere que se desencadena lo que se conoce como protección cruzada (Chmielowska *et al.*, 2010).

El cobre modifica también la expresión de genes de enzimas involucradas en la defensa antioxidante (Figura 2). En raíces y hojas de plantas de *A. thaliana* tratadas con cobre hay inducción de la expresión de genes que codifican para las enzimas catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APOD) y superóxido dismutasa (SOD). El incremento en el nivel de transcritos de la SOD es debido principalmente a la expresión de los genes de la isoforma Cu/Zn-SOD (Cuypers *et al.*, 2011).

**Respuesta Antioxidante al Estrés por Cobre**

Ante el estrés oxidativo generado por el exceso de cobre, en las plantas ocurren cambios en los componentes del sistema antioxidante enzimático y no enzimático que se encuentran en diferentes compartimientos de la célula (Figura 2).

En el ciclo ascorbato-glutatión participan las enzimas APOD, glutatión reductasa (GR), monodehidroascor-

bato y dehidroascorbatoreductasa. La inducción de la actividad de las enzimas y el incremento del contenido de ascorbato-glutatión dependen del tiempo de exposición y de la concentración de cobre (Drazkiewicz *et al.*, 2003). Así mismo, el ciclo ascorbato-glutatión es activado en dos fases, la primera activación ocurre previa a la acumulación de cobre y la segunda en presencia del metal (Cuypers *et al.*, 2000).

La enzima SOD cataliza la producción de  $H_2O_2$  a partir de  $O_2^{\cdot-}$ , que podría ser sustrato para la formación del radical OH $\cdot$ . En hojas expuestas a cobre, la actividad de SOD se correlaciona con el incremento en el contenido de OH $\cdot$  (Drazkiewicz *et al.*, 2004). La activación de SOD podría deberse a que se inducen principalmente isoformas de la enzima Cu/Zn-SOD (Tewari *et al.*, 2006). El  $H_2O_2$  que se forma es convertido a agua por la actividad de las enzimas CAT y APOD que tienen diferente afinidad por el  $H_2O_2$ . Las enzimas SOD, CAT, GR, APOD y guaiacol peroxidasa (GPOD) son activadas desde las primeras horas de tratamiento con cobre; aunque el comportamiento de sus actividades a través del tiempo es diferente para cada una de las enzimas (Mediouni *et al.*, 2009).

Las enzimas GPOD localizadas en la pared celular o en la vacuola son bifuncionales, catalizando tanto la generación como el consumo de  $H_2O_2$  para la oxidación de sustratos fenólicos, precursores de lignina, auxinas y metabolitos secundarios (Jouili *et al.*, 2011). En plantas de *Matricaria chamomilla* tratadas con cobre, el incremento en la actividad GPOD en las raíces es mayor al encontrado en hojas y ello se relaciona con una mayor acumulación del metal en las raíces (Kováčik *et al.*, 2008b). El incremento en los niveles de  $H_2O_2$  y de la actividad de GPOD en las hojas como una respuesta al cobre sugiere que esta enzima está involucrada en la resistencia al daño oxidativo (Khatun *et al.*, 2008). La enzima GPOD podría participar en la remoción del  $H_2O_2$  producido en el apoplasto de las hojas (Zhang *et al.*, 2010). El aumento en la actividad de GPOD catiónicas y aniónicas es acompañada con la acumulación de lignina y la disminución en el contenido de  $H_2O_2$  (Lin *et al.*,

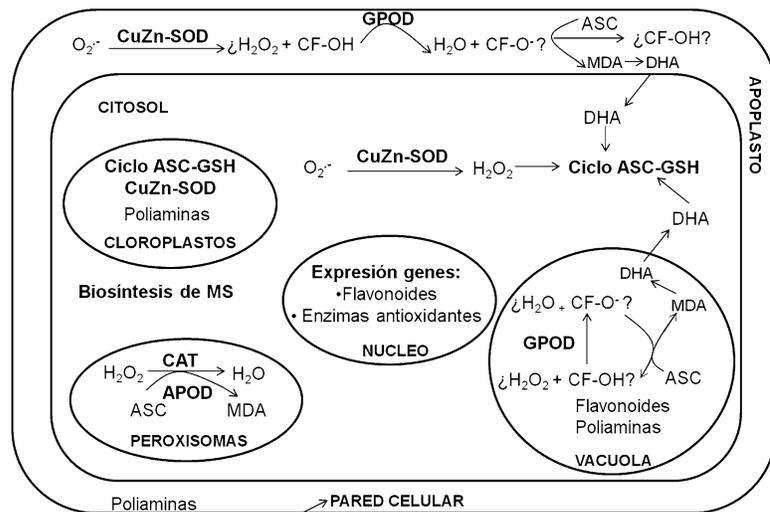


Figura 2. Enzimas y metabolitos secundarios antioxidantes que participan en la respuesta al estrés de cobre. Ciclo ASC-GSH: ciclo ascorbato-glutatión, DHA: dehidroascorbatato, MDA: monodehidroascorbatato, CF: compuestos fenólicos, APOD: ascorbato peroxidasa, CAT: catalasa, GPOD: guaiacol peroxidasa, SOD: superóxido dismutasa. Entre signos de interrogación se indican las reacciones que podrían ocurrir (Sgherri *et al.*, 2003).

2005). Por lo que, estas enzimas podrían estar involucradas en la síntesis de lignina y la detoxificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en respuesta a cobre.

### Los Metabolitos Secundarios en la Defensa Antioxidante al Estrés por Cobre

La acumulación de metabolitos secundarios con actividad antioxidante también podría formar parte del sistema de defensa de las plantas para tolerar el estrés oxidativo causado por la exposición a altas concentraciones de cobre (Figura 2). En segmentos de hojas de *Triticum aestivum* expuestos a cobre se induce la acumulación de la poliamina putrescina y la actividad de ornitina descarboxilasa, involucrada en su síntesis (Groppa *et al.*, 2007). Cuando estos segmentos de hojas son previamente incubados con la poliamina espermina y después son tratados con cobre, se inhibe la peroxidación de lípidos. Este pre-tratamiento también restaura parcial o totalmente la actividad de las enzimas antioxidantes, sugiriendo una función de protección de las poliaminas contra el estrés oxidativo causado por cobre (Groppa *et al.*, 2001). Los sitios de almacenamiento de poliaminas podrían ser la vacuola, cloroplasto y pared celular, de acuerdo a lo señalado por Kaur-Sahwney *et al.* (2003).

En las hojas de *Withania somnifera* se ha propuesto que los compuestos fenólicos son parte de la defensa antioxidante en respuesta al cobre (Khatun *et al.*, 2008). El cobre induce la acumulación de compuestos fenólicos y flavonoides que podrían estar involucrados en la defensa antioxidante o en la síntesis de lignina a través de las reacciones catalizadas por las peroxidases de ácido cafeico y ácido clorogénico (Ali *et al.*, 2006). El incremento en el contenido de ácidos fenólicos probablemente evita la peroxidación de lípidos causada por cobre (Kováčik *et al.*, 2008a, b). En brotes de *Raphanus sativus* el contenido de derivados hidroxilados de los ácidos cinámico y benzoico y el nivel de ácido ascórbico aumentan conforme el cobre es acumulado, por lo que en este estudio proponen que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generado por la exposición a cobre podría ser detoxificado por los ácidos fenólicos a través de una reacción catalizada por una peroxidasa. Los radicales generados por esta reacción podrían ser reducidos por el ácido ascórbico, que se regenera en el citosol. Esta serie de reacciones probablemente ocurran en el apoplasto y en la vacuola, que son los compartimentos celulares donde hay una mayor concentración de compuestos fenólicos (Sgherri *et al.*, 2003).

En plantas de *Phaseolus coccineus* tratadas con cobre, hay una mayor acumulación de flavonoles en las hojas jóvenes comparado con las hojas viejas (Skórzyńska-Polit *et al.*, 2004); sugiriendo que la etapa de desarrollo de la hoja también influye en la respuesta de defensa de la planta. Una explicación podría ser que las hojas jóvenes presentan una defensa química activa. Sin embargo, durante la transición de la hoja como órgano receptor a órgano fuente (hojas completamente expandidas), el nivel de compuestos de defensa disminuye y las hojas no cuentan con suficientes reservas de carbono. Durante esta etapa de transición las hojas son incapaces de asignar los recursos necesarios para la defensa y reparación, y son vulnerables al estrés (Coleman, 1986).

### Conclusiones

Las plantas han desarrollado diversos mecanismos externos e internos para evitar la acumulación del cobre, y de defensa para contrarrestar los efectos tóxicos de este metal. La generación masiva de especies reactivas de oxígeno como resultado de la exposición al cobre induce la activación del sistema enzimático antioxidante. La acumulación de metabolitos secundarios también podría formar parte de esta respuesta antioxidante regulada a nivel de la expresión de los genes que codifican para las enzimas responsables de su síntesis.

### REFERENCIAS

- Ali MB, Hahn EJ, Paek KY (2006) Copper-induced changes in the growth, oxidative metabolism, and saponin production in suspension culture roots of *Panax ginseng* in bioreactors. *Plant Cell Rep.* 25: 1122-1132.
- Babu TS, Marder JB, Tripuranthakam S, Dixon DG, Greenberg BM (2001) Sinergistic effects of a photooxidized polycyclic aromatic hydrocarbon and copper on photosynthesis and plant growth: evidence that *in vivo* formation of reactive oxygen species is a mechanism of copper toxicity. *Env. Toxicol. Chem.* 20: 1351-1358.
- Boojar MMA, Farah MH (2011) The role of antioxidative enzymes in copper tolerance strategy of *Mimosaceae prosopis farcta* growing in a copper mine. *Int. J. Plant Biol.* 2: 1-6.
- Boojar MMA, Goodarzi F (2007) The copper tolerance strategies and the role of antioxidative enzymes in three plant species grown on copper mine. *Chemosphere* 67: 2138-2147.
- Bouazizi H, Jouili H, Geitmann A, El Ferjani E (2010) Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicol. Env. Saf.* 73: 1304-1308.
- Brun LA, Maillet J, Hinsinger P, Pépin M (2001) Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Env. Pollut.* 111: 293-302.
- Burzyński M, Klobus G (2004) Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress. *Photosynthetica* 42: 505-510.
- Cao ZH, Hu ZY (2000) Copper contamination in paddy soils irrigated with wastewater. *Chemosphere* 41: 3-6.
- Chaoui A, Jarrar B, El Ferjani E (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.
- Chen CT, Chen TH, Lo KF, Chiu CY (2004) Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. *Plant Sci.* 166: 103-111.
- Chen PY, Lee KT, Chi WC, Hirt H, Chang CC, Huang HJ (2008) Possible involvement of MAP kinase pathways in acquired metal-tolerance induced by heat in plants. *Planta* 228: 499-509.
- Chmielowska J, Veloso J, Gutiérrez J, Silvar C, Díaz J (2010) Cross-protection of pepper plants stressed by copper against a vascular pathogen is accompanied by the induction of a defence response. *Plant Sci.* 178: 176-182.
- Coleman JS (1986) Leaf development and leaf stress: increased susceptibility associated with sink-source transition. *Tree Physiol.* 2: 289-299.
- Cuypers A, Vangronsveld J, Clijsters H (2000) Biphasic effect of copper on the ascorbate-glutathione pathway in primary leaves of *Phaseolus vulgaris* seedlings during the early stages of metal assimilation. *Physiol. Plant.* 110: 512-517.
- Cuypers A, Smeets K, Ruytinx J, Opdenakker K, Keunen E, Remans T, Horemans N, Vanhoudt N, Van Sanden S, Van Belleghem F, Guisez Y, Colpaert J, Vangronsveld J (2011) The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *J. Plant Physiol.* 168: 309-316.
- De la Cruz-Landero N, Hernández VE, Guevara E, López-López MA, Santos AT, Ojeda-Trejo E, Alderete-Chávez A (2010) *Lupinus versicolor* response in soils contaminated with heavy metals from a petroleum extraction field. *J. Appl. Sci.* 10: 694-698.
- Drażkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z (2003) Response of the ascorbate-glutathione cycle to excess copper in *Arabidopsis thaliana* (L.). *Plant Sci.* 164: 195-202.
- Drażkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z (2004) Copper-induced oxidative stress and antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. *Biometals* 17: 379-387.
- Fernandes JC, Henriques FS (1991) Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Bot. Rev.* 57: 246-273.
- Flores-Delgado L, Hernández-Silva G, Alcalá-Martínez R, Maples-Vermeersch M (1992) Total contents of cadmium, copper, manganese and zinc in agricultural soils irrigated with wastewater from Hidalgo, Mexico. *Rev. Int. Contam. Amb.* 8: 37-46.
- Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP (2001) Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf disc. *Plant Sci.* 161: 481-488.
- Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP (2007) Polyamines and heavy metal stress: the antioxidant behavior of spermine in cadmium-

- and copper-treated wheat leaves. *BioMetals* 20: 185-195.
- Groppa MD, Zawoznik MS, Tomaro ML, Benavides MP (2008) Inhibition of root growth and polyamine metabolism in sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings under cadmium and copper stress. *Biol. Trace Elem. Res.* 126: 246-256.
- Hall JL (2002) Cellular mechanism for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.* 53: 1-11.
- Hopkins WG (1995) Roots, soils and nutrient uptake. En: *Introduction to Plant Physiology*. 2ª ed. Wiley. Nueva York, EEUU. pp 77-92.
- Hsu BD, Lee JY (1988) Toxic effects of copper on photosystem II of spinach chloroplast. *Plant Physiol.* 87: 116-119.
- Irtelli B, Petrucci WA, Navari-Izzo F (2009) Nicotianamine and histidine/proline are, respectively, the most important copper chelators in xylem sap of *Brassica carinata* under conditions of copper deficiency and excess. *J. Exp. Bot.* 60: 269-277.
- Jiang W, Liu D, Liu X (2001) Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. *Biol. Plant.* 44: 105-109.
- Jouili H, Bouazizi H, El Ferjani E (2011) Plant peroxidases: biomarkers of metallic stress. *Acta Physiol. Plant.* 33: 2075-2082.
- Kasim WA (2006) Changes induced by copper and cadmium stress in the anatomy and grain yield of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Int. J. Agric. Biol.* 8: 123-128.
- Kaur-Sawhney R, Tiburcio AF, Altabella T, Galston AW (2003) Polyamines in plants: An overview. *J. Cell Mol. Biol.* 2: 1-12.
- Ke W, Xiong Z, Xie M, Luo Q (2007) Accumulation, subcellular localization and ecophysiological response to copper stress in two *Daucus carota* L. populations. *Plant Soil* 292: 291-304.
- Khatun S, Ali MB, Hahn EJ, Paek KY (2008) Copper toxicity in *Withania somnifera*: Growth and antioxidant enzyme responses of in vitro grown plants. *Env. Exp. Bot.* 64: 279-285.
- Kováčik J, Grúz J, Bačkor M, Tomko J, Strnad M, Repčák M (2008a) Phenolic compounds composition and physiological attributes of *Matricaria chamomilla* grown in copper excess. *Env. Exp. Bot.* 62: 145-152.
- Kováčik J, Bačkor M y Kaduková J (2008b) Physiological responses of *Matricaria chamomilla* to cadmium and copper excess. *Env. Toxicol.* 23: 123-130.
- Krauskopf KB (1983) Geoquímica de los micronutrientes. En: Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL (Eds.) *Micronutrientes en Agricultura*. AGT. México. pp 14-18.
- Landero JA, Wrobel K, Afton S, Caruso JA, Gutierrez JF, Wrobel K (2008) Effect of some heavy metals and soil humic substances on the phytochelatin production in wild plants from silver mine areas of Guanajuato, Mexico. *Chemosphere* 70: 2084-2091.
- Lehotai N, Peto A, Weisz M, Erdei L, Kolbert Z (2011) Generation of reactive oxygen and nitrogen species in pea cultivars under copper exposure. *Acta Biol. Szeged.* 55: 273-278.
- Lequeux H, Hermans C, Lutts S, Verbruggen N (2010) Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 673-682.
- Li F, Shi J, Shen C, Chen G, Hu S, Chen Y (2009) Proteomic characterization of copper stress response in *Elsholtzia splendens* roots and leaves. *Plant Mol. Biol.* 71: 251-263.
- Lin CC, Chen LM, Liu ZH (2005) Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Sci.* 168: 855-861.
- Liu D, Jiang W, Meng Q, Zou J, Gu J, Zeng M (2009) Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Allium sativum* L. *Biocell* 33: 25-32.
- López-Bucio J, Nieto-Jacobo MF, Ramírez-Rodríguez V, Herrera-Estrella L (2000) Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Sci.* 160: 1-13.
- Luna CM, González CA, Trippi VS (1994) Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.* 35: 11-15.
- Maksymiec W, Russa R, Urbanik-Sypniewska T, Baszynski T (1994) Effect of excess Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages. *Physiol. Plant.* 91: 715-721.
- Maksymiec W (1997) Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica* 34: 321-342.
- 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.
- Mediouni C, Ben AW, Houlné G, Chabouté ME, Jemal F (2009) Cadmium and copper induction of oxidative stress and antioxidative response in tomato (*Solanum lycopersicon*) leaves. *Plant Growth Regul.* 57: 89-99.
- Mirlean N, Roisenberg A, Chies JO (2007) Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (Southern Brazil). *Env. Pollut.* 149: 10-17.
- Mohanty N, Vass I, Demeter S (1989) Copper toxicity affects photosystem II electron transport and the secondary quinone acceptor, QB. *Plant Physiol.* 90: 175-179.
- Murphy AS, Eisinger WR, Shaff JE, Kochian LV, Taiz L (1999) Early copper-induced leakage of K<sup>+</sup> from *Arabidopsis* seedlings is mediated by ion channels and coupled to citrate efflux. *Plant Physiol.* 121: 1375-1382.
- Ongley LK, Armienta A, Mango H (2003) Concentrations of heavy metals in soil, Zimapan, Mexico. *J. Phys. IV France* 107: 983-986.
- Orcutt DM, Nilsen ET (2000) Phytotoxicity and soil pollution: heavy metals and xenobiotics. En *Physiology of Plants Under Stress: Soil and Biotic Factors*. Wiley. Nueva York, EEUU. pp. 495-501.
- Palmer CM, Guerinet ML (2009) Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Nat. Chem. Biol.* 5: 333-340.
- Parry AD, Tiller SA, Edwards R (1994) The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiol.* 106: 195-202.
- Pasternak T, Rudas V, Potters G, Jansen MAK (2005) Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Env. Exp. Bot.* 53: 299-314.
- Pellinen RI, Korhonen M-S, Tauriainen AA, Tapio Palva E, Kangasjärvi J (2002) Hydrogen peroxide activates cell death and defense gene expression in birch. *Plant Physiol.* 130: 549-560.
- Pietrzak U, Uren NC (2011) Remedial options for copper-contaminated vineyard soils. *Soil Res.* 49: 44-55.
- Pilon M (2011) Moving copper in plants. *New Phytol.* 192: 305-307.
- Price CA, Carell EF (1964) Control by iron of chlorophyll formation and growth in *Euglena gracilis*. *Plant Physiol.* 39: 862-868.
- Quartacci MF, Pinzino C, Sgherri CLM, Vecchia FD, Navari-Izzo F (2000) Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in wheat. *Physiol. Plant.* 108: 87-93.
- Razo I, Carrizales L, Castro J, Diaz-Barriga F, Monroy M (2004) Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico. *Water Soil Pollut.* 152: 129-152.
- Rosales L, Carranza A, Santiago S (1994) Heavy metals in rocks and stream sediments from the northwestern part of Baja California, Mexico. *Rev. Int. Contam. Amb.* 10: 77-82.
- Russo M, Sgherri C, Izzo R, Navari-Izzo F (2008) *Brassica napus* subjected to copper excess: Phospholipases C and D and glutathione system in signaling. *Env. Exp. Bot.* 62: 238-246.
- Salisbury FB, Ross CW (1991) Mineral nutrition. En *Plant Physiology*. Vol. 1. Wadsworth. Belmont, CA, EEUU. pp 116-135.
- Sancenón V, Puig S, Mateu-Andrés I, Dorcey E, Thiele D, Peñarrubia L (2004) The *Arabidopsis* copper transporter COPT1 functions in root elongation and pollen development. *J. Biol. Chem.* 279: 15348-15355.
- Scarponi L, Perucci P (1984) Effect of some metals and related metal-organic compounds on ALA-dehydratase activity of corn. *Plant Soil* 79: 69-75.
- Schat H, Llugany M, Vooijs R, Hartley-Whitaker J, Bleeker PM (2002) The role of phytochelatin in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *J. Exp. Bot.* 53: 2381-2392.
- Schmidke I, Stephan UW (1995) Transport of metal micronutrients in the phloem of castor bean (*Ricinus communis*) seedlings. *Physiol. Plant.* 95: 147-153.
- Schröder WP, Arellano JB, Bittner T, Barón M, Eckert HJ, Renger G (1994) Flash-induced absorption spectroscopy studies of copper interaction with photosystem II in higher plants. *J. Biol. Chem.* 269: 32865-32870.
- Sgherri C, Cosi E, Navari-Izzo F (2003) Phenols and antioxidative status of *Raphanus sativus* grown in copper excess. *Physiol. Plant.* 118: 21-28.
- Sharma SS, Dietz KJ (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.* 57: 711-726.
- Shioi Y, Tamai H, Sasa T (1978) Effects of copper on photosynthetic electron transport systems in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 19: 203-209.
- Skórzynska-Polit E, Drażkiewicz M, Wianowska D, Maksymiec W, Dawidowicz AL, Tukiendorf A (2004) The influence of heavy metal stress on the level of some flavonols in the primary leaves of *Phaseolus coccineus*. *Acta Physiol. Plant.* 26: 247-254.

- Skórzynska-Polit E (2007) Lipid peroxidation in plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress. *Acta Soc. Bot. Pol.* 76: 49-54.
- Soloz M, Vulpe C (1996) CPx-type ATPases: a class of P-type ATPases that pump heavy metals. *TiBS* 21: 237-241.
- Stiborová M, Ditrichová M, Břesinová A (1987) Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedlings. *Biol. Plant.* 29: 453-467.
- Sudo E, Itouga M, Yoshida-Hatanaka, Ono Y, Sakakibara H (2008) Gene expression and sensitivity in response to copper stress in rice leaves. *J. Exp. Bot.* 59: 3465-3474.
- Taiz L, Zeiger E (2010) Mineral nutrition. En *Plant Physiology*. 5ª ed. Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. pp 74-82.
- Tewari RK, Kumar P, Sharma PN (2006) Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. *Planta* 223: 1145-1153.
- Tiffin LO (1983) Translocación de micronutrientes en plantas. En Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay WL (Eds.) *Micronutrientes en Agricultura*. AGT. México. pp 217-225.
- Turchi A, Tamantini I, Camussi AM, Rachi ML (2012) Expression of a metallothionein A1 gene of *Pisum sativum* in white poplar enhances tolerance and accumulation of zinc and copper. *Plant Sci.* 183: 50-56.
- Urbański NK, Beręsewicz A (2000) Generation of OH<sup>•</sup> initiated by interaction of Fe<sup>2+</sup> and Cu<sup>+</sup> with dioxygen; comparison with the Fenton chemistry. *Acta Biochim. Pol.* 47: 951-962.
- Van Breusegem F, Dat JF (2006) Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol.* 141: 384-390.
- Van Tichelen KK, Colpaert JV, Vangronsveld J (2001) Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. *New Phytol.* 150: 203-213.
- Wang SH, Zhang H, Zhang Q, Jin GM, Jiang SJ, Jiang D, He QY, Li ZP (2011) Copper-induced oxidative stress and responses of the antioxidant system in roots of *Medicago sativa*. *J. Agron. Crop Sci.* 197: 418-429.
- Wedepohl KH (1990) The composition of the upper earth's crust and the natural cycles of selected metals. En Merian E (Ed.) *Metals and their Compounds in the Environment*. VCH, Nueva York, EEUU. pp. 3-17.
- Yeh CM, Hung WC, Huang HJ (2003) Copper treatment activates mitogen-activated protein kinase signaling in rice. *Physiol. Plant.* 119: 392-399.
- Yruela I (2005) Copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17: 145-156.
- Zhang H, Zhang F, Xia Y, Wang G, Shen Z (2010) Excess copper induces production of hydrogen peroxide in the leaf of *Elsholtzia haichowensis* through apoplastic and symplastic CuZn-superoxide dismutase. *J. Haz. Mat.* 178: 834-843.
- Zhao S, Liu Q, Qi Y, Duo L (2010) Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turfgrass. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 52: 7-11.

## OXIDATIVE DAMAGE CAUSED BY COPPER AND THE ANTIOXIDANT RESPONSE OF PLANTS

Janet María León Morales and Gabriela Sepúlveda-Jiménez

### SUMMARY

Industrial and agricultural wastes are the main source of copper accumulation in the soil. Copper is an essential micronutrient for plants, required for their growth, and participates in oxidation-reduction reactions. However, copper becomes a toxic metal when it is in tissues at concentrations higher than those needed for plant growth (>30mg·kg<sup>-1</sup>). Copper promotes the generation of reactive oxygen species (ROS), in enzymatic and non-enzymatic form (through the Fenton reaction), which may cause oxidation of proteins and lipids, alter membrane integrity, photosynthesis and growth, and induce cell death. Among the biochemical mechanisms that are induced in response to the oxidative damage caused by copper is the in-

crease in the activities of antioxidant enzymes such as catalase, superoxide dismutase, glutathione reductase, ascorbate and guaiacol peroxidases. Some studies indicate that antioxidant secondary metabolites such as phenolic acids, polyamines and flavonols could also be involved in counteracting the oxidative damage generated by copper. Due to the relevance of the damage that causes in plants the exposure to toxic levels of copper, in this article we review the studies performed from 2000 to 2012, showing the biochemical and physiological processes affected in plants by the oxidative stress induced by the metal and the antioxidant mechanisms that participate in the defense to copper excess.

## O DANO POR OXIDAÇÃO CAUSADO POR COBRE E A RESPOSTA ANTIOXIDANTE DAS PLANTAS

Janet María León Morales e Gabriela Sepúlveda-Jiménez

### RESUMO

Os detritos industriais e agrícolas são a principal fonte de acumulação de cobre no solo. O cobre é um micronutriente essencial das plantas que é requerido para seu crescimento e participa em reações de oxidação-redução. No entanto, se converte em um metal tóxico quando se encontra nos tecidos a concentrações mais altas às necessárias para o crescimento vegetal (>30mg·kg<sup>-1</sup>). O cobre promove a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), em forma enzimática e não enzimática (através da reação de Fenton), as quais podem causar a oxidação de proteínas e lipídios, alterar a integridade das membranas, a fotossíntese, o crescimento e induzir a morte celular. Entre os mecanismos bioquímicos de defesa que se induzem em resposta ao dano oxidativo causado por cobre está o

incremento das atividades de enzimas antioxidantes tais como catalase, superóxido dismutase, glutatona redutase, ascorbato e guaiacol peroxidases. Alguns estudos indicam que metabólitos secundários antioxidantes como ácidos fenólicos, poliaminas e flavonóides também poderiam estar envolvidos em combater o dano por oxidação gerado por cobre. Devido à relevância do dano que causa nas plantas por exposição a níveis tóxicos de cobre, neste artigo se faz uma revisão dos estudos realizados desde 2000 até 2012, que mostra os processos bioquímicos e fisiológicos que são afetados nas plantas pelo estresse oxidativo induzido pelo metal e dos mecanismos antioxidantes que participam na defesa pelo excesso de cobre.