

An. Aula Dei 20(1-2):65-90.

Revisión actualizada del papel de los oligoelementos

en plantas superiores. I. Manganeso *

por E. Monge y J. Val

Estación Experimental de Aula Dei, ZARAGOZA

Palabras clave: oligoelementos, plantas superiores, manganeso.

ABSTRACT

E. Monge and J. Val 1989. The role of oligoelements in higher plants. An updated review. I. Manganese. An. Aula Dei 20(1-2):65-90.

This work is a review about the soil and plant metabolic processes in which manganese is involved. They are described the chemical state and reactions of manganese in soils, its transport through the plant and its functional role in leaf cell. It also has been reported the differentiate capacity between species or even genotypes to absorb and/or utilise manganese which led to the classification in: "efficient or susceptible". C_4 and C_3 plants behaves differently in response to manganese deficiency, and also, monocotyledon and dicotyledon. At the cellular level, manganese is involved as prosthetic group or catalyst in numerous enzymes as for instance in superoxide dismutase. They have been highlighted recent research in the structure and function of manganese in the water splitting system. Finally, a brief summary of the metabolic and visual effects of manganese deficiency and toxicity has been given.

INTRODUCCION

El manganeso tiene importantes funciones en el metabolismo de las plantas, particularmente en los procesos de activación de diferentes enzimas, síntesis de clorofila, fotosíntesis, reducción de nitratos, síntesis de aminoácidos, aminoácidos aromáticos, hormonas (auxinas), fenoles, ligninas y proteínas (Campbell y Nable, 1988).

*Este trabajo se ha realizado al amparo del Proyecto subvencionado por CAICYT. PB 89-0060

En el tejido foliar, el manganeso está asociado funcionalmente con proteínas del aparato responsable de la lisis del agua y por lo tanto es indispensable para que se genere el flujo electrónico fotosintético. También existen datos que parecen indicar papeles adicionales del manganeso en otras proteínas extracloroplásticas como la manganeso-superóxido dismutasa en los peroxisomas (Del Río et al., 1983).

En 1937 Pirson descubrió que la baja actividad fotosintética en algas deficientes en manganeso retornaba a sus valores normales en el período de una hora tras la adición de Mn^{2+} al sustrato. Esta fue la pista que condujo al descubrimiento de la esencialidad de este elemento para que se produzca la reacción de Hill (Cheniae y Martin, 1968). Este es sin duda el papel más importante del manganeso en la naturaleza: el desprendimiento de oxígeno en la fotosíntesis, indispensable para mantener la vida aerobia sobre la tierra (George, et al., 1989).

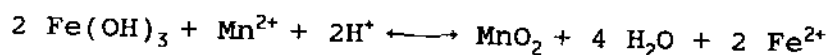
I- El manganeso en el suelo

La concentración de Mn en el suelo puede presentar variaciones considerables (de 20 a 6000 ppm), si bien lo más frecuente es que esté comprendida entre 200 y 300 ppm. Está presente en el suelo en dos formas distintas (Coppenet et al, 1968):

1) - La más importante en nutrición vegetal, la forma Mn^{2+} , que se encuentra adsorbida en la materia orgánica y minerales arcillosos.

2) - Las formas oxidadas, trivalente o tetravalente, son las más abundantes, reaccionan con facilidad y son inestables en la solución del suelo, si bien a pesar de la capacidad de reacción del Mn^{3+} , se ha encontrado en forma metaestable como intermediario de varias reacciones de oxido-reducción (Barlett, 1986).

Los principales complejos inorgánicos de Mn^{2+} son: sulfatos, bicarbonatos y cloruros (Lindsay, 1979). Estos pueden ser oxidados por reacción con compuestos férricos según la ecuación:



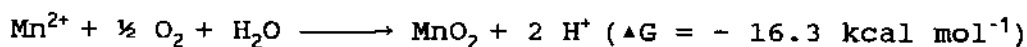
El Mn^{2+} disuelto en el suelo se halla en equilibrio con el adsorbido por los minerales arcillosos y la materia orgánica. Su concentración en suelos ácidos y neutros está comprendida entre 10^{-6} y 10^{-4} M (Geering et al., 1969). En condiciones reductoras se solubiliza el Mn^{2+} ligado y es absorbido mediante una reacción de intercambio iónico (Ellis y Knezek, 1972).

El define el manganeso asimilable como la fracción integrada por el manganeso disuelto en el suelo en forma de Mn^{2+} junto con las formas fácilmente reducibles (Coppenet, 1968). La capacidad de asimilación del Mn por el suelo está influenciada por los factores que intervienen en los procesos de oxido-reducción, es decir: pH y estado hídrico del suelo, cantidad de materia orgánica y actividad microbiana. Por cada unidad que se incrementa el Ph en el suelo se reduce la concentración de Mn^{2+} en 100 veces (Lindsay, 1972). Este aumento de pH favorece también la formación de complejos Mn-materia orgánica, con la correspondiente pérdida de su capacidad de asimilación. El Mn^{2+} forma complejos

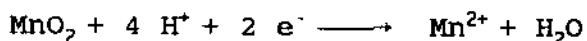
en el suelo con ligandos orgánicos producidos por distintos organismos, entre los que se incluyen: ácidos orgánicos y húmicos, aminoácidos, azúcares ácidos, sideróforos, fenoles y otros compuestos (Stevenson, 1982). En suelos saturados de agua, aumentan los procesos de reducción, produciendo concentraciones de Mn que pueden llegar a ser tóxicas (Lindsay, 1972).

La química del manganeso en el suelo está enormemente influenciada por la actividad microbiana, especialmente a pH neutro. Los microorganismos pueden oxidar y reducir el Mn, pero mientras que la oxidación ha sido estudiada intensivamente desde 1913 (Beijerinck, 1913; Ghiorse, 1984; Nealson, 1983). A pesar de que el estudio de la reducción microbiana comenzó casi 20 años antes que el de la oxidación (Adeny, 1894), no volvió a prestársele atención hasta la década de los sesenta.

La actividad microbiana en la química del Mn está ampliamente representada por un amplio grupo bacterias y hongos e incluso algunos protozoos y algas. Las bacterias más comunes que realizan esta función incluyen *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Hyphomicrobium*, aunque también pueden tener importancia *Streptomyces* y *Gaeumannomyces graminis*. El proceso de oxidación, que además sirve como fuente de energía a los propios microorganismos, se realiza según la siguiente reacción (Ehrlich 1978):



Como se ha mencionado anteriormente, existen microorganismos capaces de reducir el Mn. En estos se incluyen un variado número de bacterias y hongos que producen H_2S , H_2O_2 , ácidos orgánicos y otros agentes reductores que actúan anabioticamente. Según Ehrlich (1987), la reacción de reducción podría resumirse en los siguientes términos:



Por encima de pH 6, los microorganismos del suelo pueden oxidar las formas manganosas (Mn^{2+}) en manganicas (Mn^{4+}) (Meek et al., 1968). Esto supone que el tratamiento del suelo con fumigantes, para su desinfección, provoque en muchos casos mejoras en los síntomas que se producen con esta deficiencia. Por otro lado, el metabolismo microbiano produce agotamiento del oxígeno y formación de sustancias ácidas que también contribuyen, favoreciendo las condiciones reductoras, a aumentar la concentración de Mn^{2+} en el suelo (Lucas y Knezek, 1972).

La nutrición vegetal juega un importante papel en el control de enfermedades. Estas normalmente se producen en situaciones de deficiencias o de toxicidad de los nutrientes minerales. Una de los ejemplos mejor conocidos es una enfermedad que se produce en la avena que provoca unas manchas grises debidas a que ciertas bacterias en la rizosfera de la planta impiden que el Mn quede disponible a las raíces (Timonin, 1965).

La correlación directa entre una determinada enfermedad y las prácticas de cultivo que influyen en la disponibilidad del Mn, han proporcionado la necesaria comprensión para entender

y manipular los procesos metabólicos, a nivel celular, que conducen a la obtención de plantas resistentes a determinadas enfermedades.

El reconocimiento del papel del Mn respecto a la resistencia a enfermedades en plantas ha permitido un mejor conocimiento y control de las mismas. Huber y Wilhelm (1988) han hecho una recopilación de las enfermedades que se producen en algunas variedades de plantas provocadas por situaciones anómalas en la nutrición del Mn. El papel del Mn en el control de ciertas enfermedades es relativamente reciente, por lo que se presupone que este número, en las que el Mn está implicado, probablemente se verá incrementado a corto plazo.

Las aplicaciones foliares de Mn o un correcto manejo de las labores del suelo pueden, en determinadas ocasiones, ser las vías adecuadas para el control de estas enfermedades, mientras que en otros casos será necesario modificar el medio ambiente para mantener la disponibilidad de este oligoelemento. La química del Mn en el suelo es compleja e implica procesos tanto químicos como microbiológicos, así como sus interacciones. La transformación de las formas insolubles (Mn^{3+} y Mn^{4+}) a solubles (Mn^{2+}) depende en una gran proporción de factores ambientales que influyen en la disponibilidad por la planta del Mn en el suelo y por lo tanto afectan al control de estas enfermedades (Huber y Wilhelm, 1988).

II- Absorción y transporte del Mn en las plantas.

Las raíces de la planta absorben manganeso de suelos y soluciones nutritivas en forma de catión divalente a partir de sus óxidos mediante un proceso conocido como reducción de contacto (Leeper, 1947).

La planta puede tomar el manganeso disponible en el suelo de las siguientes fracciones, que incluyen:

A) - El Mn que se encuentra en la solución del suelo y el fácilmente intercambiable. Esta es una fracción minoritaria, pero muy asimilable.

B) - El Mn adsorbido específicamente, que comprende el que se encuentra quelatado por la materia orgánica del suelo y el adsorbido en los óxidos hidratados.

C) - Los óxidos de Mn, principal fuente de este elemento en la mayoría de los suelos con pH superior a 5,5.

D) - El Mn precipitado en forma de fosfatos o carbonatos.

La absorción del Mn presenta dos fases, una pasiva, pero muy rápida, que se desarrolla en un período que oscila entre 0.3 a 3 horas, a la que sigue una fase lenta de carácter metabólico y que esta influenciada por factores ambientales (Moore, 1972). La absorción, así como el transporte de Mn está influenciada por la presencia de otros iones, en particular Ca, Mg y Fe, que pueden competir con él (Maas et al., 1969).

Las dos principales características de la toma y traslocación de Mn por las raíces (Micronutrient-Bureau, 1989) son:

I- Las raíces tienen un exceso de capacidad para absorber Mn (de 100 a 1000 veces mayor que la necesaria).

II- Las plantas mantienen concentraciones adecuadas y constantes de manganeso citoplasmático, por la capacidad que tienen las células de retener el exceso de manganeso en las vacuolas. Esta retención de Mn en las vacuolas puede ser irreversible y podría ser la causa de la inmovilidad del Mn dentro de la

planta.

Los principales constituyentes de la exudación radicular son azúcares y ácidos orgánicos, y en menor proporción, aminoácidos y compuestos fenólicos. Estas proporciones varían considerablemente, dependiendo de la especie vegetal y de su estado nutricional. Así, el incremento en la solubilización de MnO_2 debido a los ácidos orgánicos (principalmente, ácido málico) de los exudados de las raíces, disminuye el pH del suelo e incrementa de 10 a 50 veces la concentración de manganeso disponible (Godo y Reisenauer, 1980; Jauregui y Reisenauer, 1982).

El Mn es absorbido por las plantas en forma de Mn^{2+} , se trasloca, a través del xilema, desde las raíces a los tallos, como catión divalente libre y como tal alcanza la hoja de la que puede ser parcialmente movilizado, vía floema, a otros lugares de la planta (Graham, 1979).

Los complejos que forma el manganeso tienen constantes de estabilidad muy bajas, lo que implica la formación de uniones débiles y, por tanto pueda ser reemplazado por otros elementos Cu; Fe; Ni o Zn (Clarkson y Hanson, 1980).

Se ha estudiado el transporte de manganeso por el xilema, a partir de exudados de distintas plantas, encontrándose que, al contrario de otros elementos, se encuentra en forma de catión libre Mn^{2+} y no forma complejos con citrato (Tiffin, 1972). Se transporta fácilmente a los tejidos meristemáticos, por lo que las plantas jóvenes son ricas en este elemento (Amberger, 1973). El Mn se mueve libremente por el xilema y depende del flujo de transpiración, en concentraciones que varían entre 1 y 3500 μM (Lonergan, 1988).

La concentración de manganeso para una determinada especie vegetal, varía drásticamente en función de los factores ambientales, que afectan la absorción del elemento y el estado hídrico. Parece que el Mn en la savia está en forma de catión divalente, en equilibrio con complejos inestables de ácidos orgánicos, en proporciones que dependen del pH y de la composición salina de la savia (Lonergan, 1988).

El análisis de exudados de savia y el uso de manganeso marcado (^{54}Mn) ha permitido estudiar la movilidad del Mn en el floema. Los resultados son bastante complejos, pero en general se supone que, al contrario del manganeso de raíces y tallos, el acumulado en las hojas es inmóvil (Lonergan, 1988).

En plantas en perfecto estado nutricional, se ha encontrado que la concentración de este elemento es mayor en raíces que en hojas, más alto en las hojas maduras que en las jóvenes, siendo a su vez mayor en los limbos que en los peciolo, que en las flores o que en las semillas (Nable, 1983).

IV- Papel del manganeso en la fisiología vegetal.

La concentración media de Mn en las células vegetales es de 100 μM . Parte de este Mn se encuentra localizado en el cloroplasto en una proporción de 6 átomos por cada 400 moléculas de clorofila (Cheniae, 1970). Si suponemos que la concentración media de clorofila en la célula es de 1.8 mM, la cantidad equivalente de Mn en el cloroplasto es de 30 μM .

El Mn tiene importantes funciones en el metabolismo de las plantas, particularmente en los procesos de activación de diferentes enzimas, síntesis de clorofila, fotosíntesis, reducción de

nitratos y síntesis de aminoácidos y proteínas. A diferencia de otros elementos traza esenciales (Cu, Zn, Fe y Mo), que normalmente son componentes esenciales de enzimas, el Mn usualmente actúa como activador y puede ser sustituido por otros iones metálicos. El Mn muy similar al Mg en las funciones bioquímicas, está implicado en la activación de reacciones enzima-ticas, entre las que se encuentran las reacciones de fosforilación, decarboxilación, reducciones e hidrolisis y por lo tanto afecta a importantes procesos fisiológicos como la respiración, síntesis de aminoácidos, biosíntesis de lignina y el nivel de hormonas en plantas (Burnell, 1988).

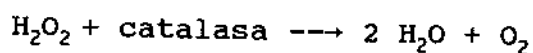
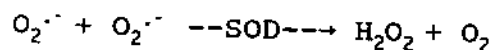
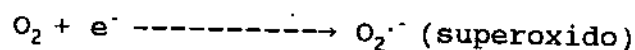
IV-A). Función enzimática

Aunque hay un buen número de enzimas activadas por Mn, hasta la fecha únicamente se han descrito, además del complejo que interviene en la fotosíntesis, otras dos enzimas que contienen este elemento (Burnell, 1986 y 1988): una superóxido dismutasa (Mn-SOD), y una fosfatasa ácida. También se ha aislado una metalproteína (56-58 kDa) de cacahuete que contiene un átomo de Mn, pero su función es desconocida (Diekert y Rozacky, 1969).

Las superóxidos dismutasas son un grupo de metaloenzimas ampliamente distribuido en los sistemas biológicos, que catalizan la disminución de los radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$) mediante la formación de oxígeno y peróxido de hidrógeno. Estos radicales superóxido se producen en un amplio rango de reacciones biológicas, entre las que se encuentran la fotoreducción del oxígeno por el PSI, conocida como reacción de Mehler (Halliwell, 1984).

Dependiendo de la actividad redox de los metales que son cofactores de estas enzimas, pueden distinguirse tres tipos de superóxido dismutasa: Cu·Zn-SOD, Fe-SOD y Mn-SOD y se pueden distinguir una de otra dependiendo del grupo metálico unido a la enzima por su sensibilidad al cianuro y al peróxido de hidrógeno (Fridovich, 1975; Bridges y Salin, 1981). La acción Cu·Zn-SOD se inhibe por cianuro y peróxido de hidrógeno, la Fe-SOD únicamente por peróxido de hidrógeno y la Mn-SOD no está afectada por ninguno de los dos reactivos (Asada, Urano y Takahashi, 1973).

Este tipo de enzimas están presentes en todos los organismos aeróbicos protegiendo a los tejidos de los efectos deletéreos de los radicales libres $O_2^{\cdot-}$ que se forman numerosas reacciones enzimáticas (Eltner, 1982):



El exceso de radicales superóxido produce radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno, que inhiben no solo la fijación de carbono (Robinson, Smith y Gibbs, 1980), sino también causa la peroxidación de ácidos grasos, provocando lesiones en las membranas celulares (Chia, Thompson y Dumbroff, 1981), aminoácidos de proteínas y ácidos nucleicos (Halliwell, 1984) que, finalmente, provocan la muerte de la planta. La producción de radicales hidroxilo

puede verse también afectada por otros factores (Youngman, 1984). La capacidad del Mn de existir en distintos estados de valencia puede contribuir también a la generación de radicales hidroxilo, según la siguiente reacción (Pryor, 1976):



En plantas superiores las SODs están ampliamente distribuidas en distintos orgánulos celulares en los que se producen radicales superóxido y peróxido de hidrógeno (Rabinowith y Fridovich, 1983). Las SODs han sido estudiadas, especialmente en hojas de guisante (Fernandez et al., 1982; Sevilla et al., 1980 y 1982; Sandalio et al., 1987) y en espinacas (Hayakawa et al., 1985).

Se ha encontrado Mn-SOD en plantas C_3 y C_4 (Foster y Edwards, 1980). Los extractos de hoja de guisante contienen un átomo de Mn por molécula de enzima (Sevilla et al., 1980). Este tipo de SOD se encuentra en numerosas especies de plantas superiores, aunque no está tan extendida como las Cu-Zn-SOD (Sandmann y Böger, 1983). El Mn que contiene esta enzima representa aproximadamente el 1% del total (Sevilla et al., 1980).

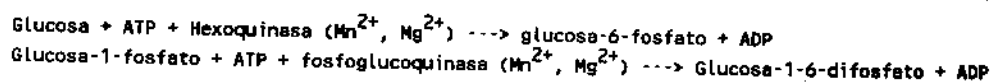
Los cloroplastos son los principales orgánulos celulares que generan radicales superóxido y peróxido de hidrógeno, consecuentemente podría suponerse que estos orgánulos deben contener estas enzimas (Jackson et al., 1978), aunque se desconoce la localización precisa de esta posible Mn-SOD cloroplástica (Sandmann y Böger, 1983).

Los cloroplastos de hojas deficientes en manganeso tienen el sistema lamelar desorganizado, lo que según Marchner (1986) produce la inactivación de esta enzima protectora. Sin embargo, se han encontrado evidencias que demuestran la ausencia de esta enzima en los cloroplastos (Braun y Scandalios, 1979; Del Rio et al., 1983; Foster y Edwards, 1980 y Palma et al., 1986). Por el contrario, se ha encontrado actividad Mn-SOD en otros orgánulos celulares como peroxisomas (Del Rio et al., 1983; Sandalio et al., 1987) glioxisomas (Palma, et al., 1986; Sandalio y Del Rio, 1987) y mitocondrias (White y Scandalios, 1987).

Se ha detectado un grupo de enzimas que contienen también Mn y que catalizan la hidrólisis de anhídridos y monoésteres del ácido fosfórico, conocidas como fosfatasa ácida (Uehara et al., 1974 a y b). Se ha logrado aislar este grupo de enzimas en una gran variedad de tejidos vegetales (Fujimoto, et al., 1980) siendo la más estudiada la obtenida de boniato. Esta enzima de color rojo-púrpura, es una proteína dimérica con peso molecular de 110 kDa, contiene dos átomos de Mn y dos de Fe (Hefler y Averill, 1987). No se sabe con seguridad si esta enzima requiere específicamente este elemento o por el contrario admite otros cationes divalentes.

Los iones de Mn también pueden activar otras enzimas: deshidrogenasa, transferasas, hidrolasas, descarboxilasas y otros (Burnell, 1988). Estas catalizan reacciones de oxidoreducción, descarboxilaciones, hidrólisis y transferencia de determinados grupos radicales, aunque, en algunos casos, los iones Mn^{2+} pueden ser reemplazados por uno o más cationes divalentes.

En alguna de sus funciones, el Mn^{2+} se asemeja e incluso puede sustituir al Mg^{2+} . Así, estos dos iones catalizan las reacciones entre el ATP y ciertas enzimas:



Se ha conseguido sustituir, "in vitro", Mg por Mn, como activador de numerosas enzimas, en especial en las que transfieren grupos fosfato (fosfoquinasas, fosfo-transferasas), las que catalizan reacciones de glicólisis y las que intervienen en el ciclo de los ácidos tricarbónicos (descarboxilasas y deshidrogenasas) (Epstein, 1971; Hewitt, y Smith, 1974). También se han observado alteraciones en la actividad de la ribulosa 1,5 difosfato carboxilasa/oxigenasa al reemplazar el Mg^{2+} por otros cationes divalentes como Mn^{2+} y Co^{2+} (Christeller y Laing, 1979). No obstante, aunque se hayan logrado reacciones de sustitución "in vitro", no es probable que reflejen la situación real "in vivo", ya que las células, por término medio contienen de 50 a 100 veces más Mg que Mn (Clarkson y Hanson, 1980). Por el contrario el Mg puede reemplazar al Mn en la activación de otras enzimas: fosfotransferasas, deshidrogenasas y fosfomutasas.

Aparte de su papel estructural en el cloroplasto y en la fotólisis del agua, el Mn es un importante cofactor implicado en la biosíntesis de metabolitos secundarios (Harkin y Obst, 1973; Gross, 1980).

La reducción de los nitratos absorbidos por las plantas es un proceso fundamental en el metabolismo vegetal. Está catalizada por diferentes cationes: Mo en la nitrato reductasa, Cu y Fe en la nitrito reductasa y Mn en la hidroxilamina reductasa (Heenan y Campbell, 1980). La fijación de nitrógeno depende de los electrones generados por la cadena de transporte electrónico fotosintético. Puesto que la deficiencia de Mn causa un descenso de la reacción de Hill, es obvio que también disminuye la reducción de nitratos (Hewitt, 1970).

Una característica básica de la fotosíntesis en plantas C_4 es la incorporación del CO_2 en ácidos de cuatro carbonos de las células del mesófilo. Estos se incorporan en las células túnicas vasculares donde son descarboxilados. Las plantas C_4 pueden clasificarse en tres grupos, en función de la enzima clave en la descarboxilación en la células túnicas vasculares: NADP-málico, NAD-málico y fosfoenolpiruvato carboxilasa, estas dos últimas dependientes de Mn^{2+} o Mg^{2+} (O'Leary et al., 1981, Burnell, 1986; Burnell y Hatch, 1988).

Un característica típica de los tejidos deficientes en Mn es el incremento en la actividad peroxidásica ($\text{R-H} + \text{R-H} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{R-R} + \text{H}_2\text{O}$), mientras que la actividad catalítica ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) no se encuentra afectada (Vielemeyer et al., 1966; Bar-Akiva y Lavon, 1967). Esta alta actividad peroxidásica es la causante de la elevada tasa de oxidación del ácido indolacético (IAA) (Morgan et al., 1976, Rao et al., 1982). El Mn contribuye a la oxidación del IAA, activando las IAA oxidasas. Se han observado una actividad de IAA anormalmente elevada en plantas deficientes en Mn. El mecanismo de acción no es bien conocido, pero parece que el cambio de valencia de Mn^{3+} a Mn^{2+} , juega un importante papel en el incremento de esta actividad (Mengel y Kirkby, 1982).

IV-B) Papel del manganeso en el cloroplasto.

Pueden distinguirse tres tipos de manganeso cloroplástico, dependiendo de su fuerza de enlace: el débil, fuerte y muy fuertemente unido a la membrana (Amesz, 1983). El débilmente unido se puede liberar por lavados con una solución de EDTA, que a su vez desprende el manganeso ligado al factor de acoplamiento (CF_1). Este tratamiento no inhibe la evolución de oxígeno, lo que demuestra que no interviene en la lisis del agua (Yocum et al., 1981). Este manganeso se encuentra en el estroma en forma de Mn^{2+} , probablemente en equilibrio con el que está débilmente adsorbido a las membranas (Sauer, 1980). Tras la extracción con EDTA puede liberarse más manganeso, mediante tratamiento con soluciones de Ca^{+2} .

El resto de manganeso cloroplástico se encuentra unido a las membranas. La mayor parte (aproximadamente dos tercios del total) está constituida por el manganeso fuertemente unido. Este puede extraerse por lavados con Tris y tratamientos térmicos y parece ser que es el "pool" funcional en la fotólisis del agua (Amesz, 1983).

El muy fuertemente unido está ligado a una proteína de 25 kDa (Lagoutte y Duranton, 1975) y desempeña un papel estructural en el apresamiento de los tilacoides (Weiland, et al., 1978), aunque algunos autores no están de acuerdo en esta última función (Anderson y Pyliotis, 1969; Simpson y Robinson, 1984).

La espectrofotometría ESR es un buen método para diferenciar el manganeso extraído con los lavados mencionados anteriormente. El manganeso en solución tiene un espectro característico, mientras que apenas puede registrarse señal del que está ligado a membranas (Amesz, 1983).

La estructura del cloroplasto de plantas deficientes en Mn depende de la severidad de la deficiencia. Mientras que una deficiencia ligera no modifica la ultraestructura del cloroplasto (Cheniae y Martin, 1968), las deficiencias severas producen una desaparición de los grana tilacoidales (Mercer et al., 1962). Otros orgánulos celulares como mitocondrias parece que no se afectan por la deficiencia (Possingham et al., 1964).

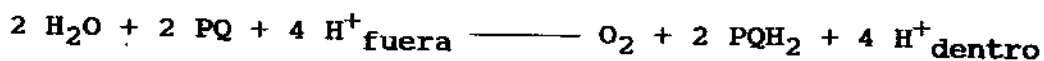
La fluorescencia de clorofila, determinada en hoja, ha sido utilizada para investigar el estado del Mn en la planta. La relación entre F_v ($F_v = F_p - F_o$) y F_o puede proporcionar una buena indicación del estado fisiológico de la planta bajo estrés de Mn (Kriedemann, 1988). Al realizar medidas de fluorescencia en hojas intactas de hojas de trigo deficientes en Mn, y compararlas con hojas control, Kriedemann et al., (1985) encontraron un fuerte incremento en F_o , descenso de F_v , junto a una clara pérdida de capacidad de desprendimiento de O_2 , y una reducción de la relación clorofila a/b, estos resultados confirmaron los obtenidos por Simpson y Robinson (1984) en espinaca. Estos autores atribuyen los cambios observados en los parámetros de fluorescencia, así como en el transporte electrónico fotosintético, a una pérdida sustancial de centros de reacción del PS2 que fue confirmada mediante microscopía electrónica. El transporte electrónico fotosintético queda afectado en los casos de deficiencia de Mn, ya que este elemento se ha demostrado imprescindible en la fotólisis del agua y por lo tanto, queda deteriorado el primer paso en la secuencia que se produce en la cadena de transporte de electrones (Edwards y Walker, 1983). Esta propiedad permite que las medidas

del desprendimiento de O_2 en hojas jóvenes sean un buen método para determinar el estado nutricional de las plantas, respecto a este elemento.

La disminución de la relación clorofila a/b se debe al aumento relativo de clorofila *b* frente a clorofila *a*; lo que implica mayor número de captadores de luz frente a centros de reacción, lo que produce que las células deficientes en Mn, sean muy sensibles al daño por fotoinhibición (Powles, 1984). La presencia, en principio, inalterada de ambos captadores de luz y de un PS1 completamente funcional, haría que la probabilidad de transmisión de la energía de excitación recibida por la antena del PS2 hacia trampas fotoquímicas abiertas fuese muy baja debido al pequeño número de centros de reacción del PS2; de esta forma, aumentaría la reemisión de luz en forma de fluorescencia y por lo tanto aumentaría la contribución F_0 debida a la propia antena (Kriedemann et al, 1985). Por otra parte, el descenso en la capacidad fotosintética del PS2 afectado por deficiencia de Mn haría disminuir F_v . Los datos de Abadía et al. (1986) también podrían interpretarse en base a esta hipótesis, ya que cuando comparan electroferogramas de plantas de remolacha deficientes en manganeso con los de plantas control, observan que las primeras tienen menor contenido en centro de reacción del PS2.

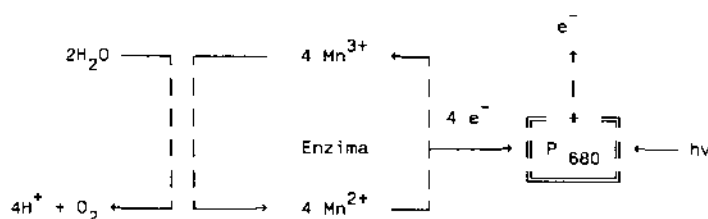
Otros experimentos han indicado que no es probable una unión directa del manganeso con los polipéptidos de bajo peso molecular del PS2, sino que éste se encuentre ligado a las proteínas D_1 y D_2 (Dismukes, 1988). Se han propuesto cuatro lugares de unión del manganeso con D_1 y D_2 , en la cara interna de la membrana tilacoidal (Coleman y Govindjee, 1987), pero otros trabajos parecen apuntar que este elemento se fija en la unión entre los polipéptidos D_1 , D_2 y 33 KDa. Esto se ha demostrado estudiando los cambios que se producen en el PS2, cuando se somete la planta a fotoinhibición, encontrando que, debido a la migración lateral de las proteínas de las regiones apresadas a las no apresadas, la degradación de D_1 induce la pérdida de manganeso, que se libera de la proteína extrínseca al espacio lumenal (Hundal, et al. 1990).

El aislamiento cromatográfico de un complejo pigmento-proteína, de tilacoides de espinaca, mediante extracción con digitonina a pH 6.0, capaz producir oxígeno ha permitido su análisis. Este complejo consiste en una única proteína extrínseca de 33 Kda y seis intrínsecas pertenecientes al centro de reacción del PS2, con 3-4 átomos de manganeso (Yamada et al., 1987). Esto ha permitido realizar estudios sobre la funcionalidad y estructura del centro de reacción del fotosistema 2. La función del PS2 consiste en oxidar el agua y reducir la plastoquinona (PQ). Además, el PS2 genera un gradiente de pH a través de la membrana tilacoidal produciendo y consumiendo protones en los lados opuestos de la membrana. El fotosistema 2 debe contener, un mínimo de 4 a 6 átomos de manganeso para alcanzar la plena funcionalidad fotosintética, y posiblemente una fracción de este manganeso se encuentre asociada con los complejos pigmento-proteína captadores de luz (Govindjee y Coleman, 1980). La reacción global, que requiere cuatro separaciones de cargas inducidas por luz, es:

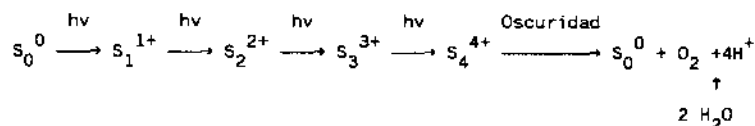


Los subíndices **dentro** y **fuera** se refieren a las superficies internas y externas de la vesícula tilacoidal, respectivamente.

La proteína que cataliza la fotólisis del agua se localiza en la membrana tilacoidal y es oxidada por el PS2. Tiene cuatro átomos de manganeso en su centro activo y se cree que actúa como acumulador de cargas (Prince, 1986; Babcock, 1987). Barber (1984) aisló y purificó, a partir de preparaciones de tilacoides, una Mn-proteína monomérica de 34 KD con dos átomos de Mn en su molécula. Según Edwards y Walker (1983), para que se produzca la fotólisis del agua es necesario que el fotosistema 2 lleve a cabo la reacción que se describe a continuación:



Durante la fotosíntesis, los pigmentos antena absorben un fotón y canalizan la energía hacia el P_{680} del centro de reacción, éste se excita y transfiere rápidamente un electrón a una molécula de feofitina, quedando cargado positivamente. La feofitina cede su electrón extra a Q_A y el P_{680}^+ acepta un electrón de Z. La cadena de transferencia electrónica vuelve a su estado original cuando Z recibe un electrón de la oxidación del agua y la molécula Q_B es sustituida por otra molécula de quinona oxidada. En la reacción de oxidación del agua se liberan cuatro electrones, pero el P_{680}^+ solo puede aceptarlos de uno en uno. Para explicar este hecho Kok et al. (1970) realizaron una serie de experimentos con destellos de luz, que les llevaron a proponer que el PS2 realiza ciclos entre cinco estados S_i ($i=0-4$) con el subíndice indicando el número de equivalentes acumulados. El avance secuencial del PS2 a través de los estados S se produce mediante separaciones de cargas inducidas por luz. Se cree que el manganeso forma parte de la estructura del acumulador de cargas ya que no se produce O_2 a no ser que el PS2 contenga cuatro átomos de manganeso por molécula de P_{680} . Está claro que, durante las transiciones entre estados S , los átomos de manganeso sufren cambios en sus estados redox, en las que el agente oxidante es la tirosina Z^+ de la proteína D_1 (Leeuwen et al. 1990). Estos átomos no se oxidan de una forma progresiva a lo largo del ciclo. El manganeso está más oxidado en S_2 que en S_1 y en S_1 más que en S_0 . No se han observado cambios apreciables entre S_2 y S_3 . Ghanotakis y Yocum (1990) ha propuesto un resumen de la reacción total que tiene lugar en el complejo productor de oxígeno del fotosistema 2:



En el estado S_4 se libera rápidamente una molécula de O_2 y se regenera el estado S_0 . Los estados S_2 y S_3 son inestables y se reducen en oscuridad al estado S_1 con tiempos de vida medios del orden de un minuto a temperatura ambiente. Por lo tanto, las muestras incubadas en oscuridad por más de treinta minutos únicamente contienen estado S_1 (Vass et al., 1990). Por el contrario, las muestras sometidas a iluminación continua contienen el mismo porcentaje de estados S_0 al S_3 que desaparecen a los pocos minutos de oscuridad a temperatura ambiente para obtener una mezcla de S_0 y S_1 en una relación 1:3.

Recientes investigaciones, sugieren que los estados S_2 y S_3 son complejos multinucleares con, al menos, cuatro átomos de manganeso. Así, el estado S_1 consistiría en un complejo de Mn(III) y el S_2 podría ser un grupo de valencias mixtas [Mn(III) Mn(III)]-[Mn(III) Mn(IV)] (Ghanotakis, 1990).

V Efectos producidos por la deficiencia de manganeso

La deficiencia de Mn afecta en gran manera los niveles de nitrógeno en las plantas (Lerer y Bar-Akiva, 1976), produciendo un incremento en la concentración de nitratos (Przemek y Schradler, 1981), nitritos (Amberger, 1974), amidas (Steward y Margolis, 1962), proteínas (Nicholas, 1961), aminoácidos libres (Steward y Margolis, 1962; Lerer y Bar-Akiva, 1976; Navarro et al., 1972) y proteínas hidrosolubles (Lerer y Bar-Akiva, 1976). Asimismo, produce una disminución de fenoles de los brotes, y de lignina tanto en raíces, como en la parte aérea (Brown et al., 1984).

V-A) Influencia del suelo

Como es lógico, los cultivos crecidos sobre suelos con bajo contenido en manganeso, son los más susceptibles a sufrir esta deficiencia, influyendo además, el drenaje adecuado y contenidos altos de materia orgánica (Farley y Draycott, 1973 y Meek et al., 1968). La deficiencia se agrava cuando el clima es frío y húmedo, como consecuencia de una menor actividad metabólica de las raíces susceptibles de disminuir la absorción (Mengel y Kirkby, 1982).

Los principales factores del suelo, que inducen la deficiencia son: pH alto, presencia de óxidos de manganeso fácilmente reducibles, incapacidad del sistema radicular de tamponar el pH y niveles altos de Mn^{2+} en al rizosfera. En suelos con pH por encima de 6.5 se favorece la oxidación de la especie manganosa a manganica no asimilable por la planta.

V-B) Tejido vegetal

Las necesidades de Mn de las plantas quedan cubiertas cuando sus tejidos contienen entre 20 y 40 $mg\ kg^{-1}$ de materia seca. Los niveles críticos de deficiencia de Mn en hojas maduras se encuentran entre 10 y 20 $mg\ kg^{-1}$ de peso seco independientemente de la especie o cultivar y de las condiciones ambientales. En cultivo hidropónico, se consideran niveles adecuados cuando la solución contiene entre 0.1 y 0.3 mg/l (Vlamis y Williams, 1962).

V-C) Alteración de la fotosíntesis y de los lípidos cloroplásticos

En 1937, Pirson encontró que la deficiencia de Mn en Chlo-

rella, inhibe la fotosíntesis antes que la respiración o la concentración de clorofila. Similares efectos se encontraron en otras algas y plantas, lo que implica que el Mn desempeña un importante papel en todos los organismos fotosintéticos. Es difícil determinar con precisión si el resto de procesos afectados (reducción de nitratos, síntesis de lípidos, etc), influyen en que la deficiencia de Mn altere el proceso fotosintético (Campell y Nable, 1988).

La clorosis asociada con la deficiencia de Mn es consecuencia de una disminución en la concentración de ambas clorofilas, aunque en distinta proporción, puesto que desciende la relación clorofila a/b. (Anderson y Pylotis, 1969; Bar-Akiva y Lavon, 1961; Simpson y Robinson, 1984; Weiland et al., 1975). De cualquier forma no está bien definido el papel del Mn en la síntesis o degradación de clorofila, aunque parece demostrado que la deficiencia de Mn afecta en primer lugar al sistema implicado en la evolución de oxígeno antes a la disminución en la concentración clorofila (Nable et al., 1983 y 1984; Weiland et al., 1975). Basandose en esta característica Lerer y Bar-Akiva (1979) determinan el contenido de Mn a través de la reacción de Hill. El descenso en la actividad de esta reacción, parece ocasionada como resultado de fotooxidación y fotodestrucción y/o por el incremento que se produce en la actividad de la polifenoloxidasas.

Cuando se producen situaciones de deficiencia de Mn, se alteran, en primer lugar, los primeros pasos de la cadena de transporte electrónico fotosintético y la fotofosforilación (Spencer y Possingham, 1961). También disminuyen la reducción de CO_2 , nitritos y sulfatos, además el contenido en clorofila también se reduce drásticamente, mientras que las tasas de respiración y transpiración permanecen inalteradas (Ohki, 1981).

La falta de clorofila en las hojas de plantas afectadas por deficiencia de Mn, puede ser causada por la liberación y activación de la polifenoloxidasas, enzima unida a la membrana tilacoidal e inactiva en condiciones normales (Vaughn y Duke, 1984). El incremento en la actividad de esta enzima produce daños metabólicos importantes, incluyendo la destrucción de la clorofila y la disminución de actividad de muchas enzimas (Loomis, 1974).

En plantas C_4 existen al menos dos enzimas fotosintéticas que requieren Mn y no pueden ser reemplazadas por Mg: (NAD-málico y fosfoenolpiruvato carboxilasa). Estos requerimientos adicionales de Mn hacen que este tipo de plantas sean más sensibles a la deficiencia de Mn que las C_3 .

La nutrición de Mn, también afecta distintos aspectos del metabolismo de lípidos y de ácidos grasos de los tejidos de las plantas. Su papel en el metabolismo de los lípidos no es claro. En células deficientes no solamente se reduce el contenido de clorofila, sino además el resto de constituyentes lipídicos de las membranas cloroplásticas (Constantopoulos, 1970). La deficiencia de este elemento produce menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados y de glicolípidos en los cloroplastos (Cooper y Girton, 1963), ya que el Mn está también implicado en la biosíntesis de ácidos grasos al ser el activador de una coenzima que contiene biotina y permitir la transferencia y unión de unidades del grupo acetyl de la CoA para la formación de los ácidos grasos. Además, el Mn tiene un papel indirecto en

la concentración de pigmentos fotosintéticos.

El papel del Mn en estos procesos es desconocido, aunque sus efectos muy bien podrían ser secundarios, al estar la tasa de fotosíntesis afectada y por consiguiente restringido el suministro de los esqueletos carbonados necesarios en la síntesis de los ácidos grasos (Marschner, 1986).

V-D) Alteración en la asimilación de nitrógeno

Las plantas deficientes en Mn acumulan en sus raíces cantidades elevadas en nitritos (Amberger, 1973). Cuando la reducción de nitritos es baja, la actividad de la nitrato reductasa debe estar reducida y se produce una acumulación de NO_3^- (Mengel y Kirkby, 1982).

Los elevados niveles de nitrógeno soluble (Lerer y Bar-Akiva, 1976) en plantas deficientes no indican una implicación directa del Mn en la asimilación de nitratos. La asimilación probablemente estará indirectamente afectada por la carencia de hidratos de carbono para la reducción de nitratos en el citosol, menores tasas de reducción de nitritos en cloroplastos deficientes en Mn y finalmente una menor demanda de N_2 reducido en el desarrollo de plantas deficientes.

La deficiencia de Mn reduce severamente los niveles de carbohidratos solubles debido a la función del Mn en la fotosíntesis (Marschner, 1986)

V-E) Síntomas visuales de la deficiencia de manganeso en plantas superiores

Los síntomas de la deficiencia de manganeso en hojas varían en función de la especie vegetal. Mientras que en dicotiledóneas la característica más evidente es la clorosis intervenal en las hojas más jóvenes. En cereales se desarrollan manchas verde-grisáceas en las hojas basales.

En general, las venas y células más próximas al tejido intervenal permanecen verdes durante más tiempo, incluso cuando los puntos cloróticos llegan a necrosarse. De esta forma la deficiencia de Mn es fácilmente distinguible de la dehierro (Marschner, 1986).

Según Hewitt et al. (1983), Scaife y Turner (1983) y Winsor et al. (1987) la sintomatología de la deficiencia de Mn depende de la especie. Tomando como ejemplos algunas de las especies vegetales del tipo C_3 los síntomas visuales más característicos son:

En tomate: no se presentan síntomas visuales (clorosis) en los casos de deficiencia ligera, pero cuando ésta es severa, el espesor de la hoja disminuye y se observa una clorosis amarillo-verdosa que destaca del verde oscuro de las venas, con numerosos puntos necróticos. Posteriormente estas hojas se marchitan y mueren (Eltinge, 1941). La diferencia entre esta deficiencia y la de hierro es que la amarillez que aparece en las hojas más jóvenes va acompañada de zonas verde oscuro alrededor de las venas.

En patata: gran número de pequeñas zonas rodeadas necrosis marrón oscuro o negra en las hojas verdes. Estas pueden disponerse en grupos de filas cercanas a la nervadura central o hacia las venas principales. Los peciolo son normalmente de color verde.

En judía: profuso moteado necrótico en algunas hojas, con clorosis que oscila entre amarillez total con un verde profundo en

las venas principales, hasta un moteado difuso intervenal.

En remolacha: hojas de forma triangular, márgenes curvos hacia delante, severa clorosis intervenal. Cuando la deficiencia es aguda la clorosis se extiende a la hoja entera.

En guisante: hojas con ligera clorosis intervenal que comienza en los márgenes.

En espinaca: Clorosis intervenal de las hojas más viejas que las hace quebradizas llegando deshidratarse. El punto de crecimiento de las hojas jóvenes permanece verde.

VI- Toxicidad de Mn.

En contraste al estrecho margen de definición de niveles de deficiencia, el criterio de toxicidad varía ampliamente en función de la especie vegetal y de las condiciones ambientales (Edwards y Asher, 1982). Siendo de especial importancia: la temperatura e intensidad luminosa (Heenan y Carter, 1977), y la presencia de silicio que incrementa la tolerancia (Horst y Marschner, 1978). De esta forma, si los niveles normales de Mn en plantas se sitúan entre 20-40 mg kg⁻¹, se produce toxicidad cuando los tejidos acumulan entre 400 a 2000 mg kg⁻¹ de materia seca (Marschner, 1986).

La toxicidad de Mn es un importante factor limitante en el crecimiento de las plantas en suelos ácidos, mal drenados o esterilizados. El Mn se absorbe fácilmente por las raíces, y de igual forma se transporta a los brotes. Esta es la razón por la que este elemento, comparado con el resto de metales, está clasificado como el de menor toxicidad para las raíces, y por qué la toxicidad de Mn aparece en primer lugar en los brotes (Brown y Devine, 1980). Una de las fitohormonas directamente afectada por la toxicidad de manganeso es el ácido indolacético (IAA), que aumenta considerablemente su actividad oxidásica (Morgan et al., 1976). Esto hace que cuando las raíces se encuentran en un entorno con exceso de manganeso, disminuya el crecimiento radicular, con el fin adecuar a la planta a un entorno con un alto suplemento de Mn (Wong y Bradshaw, 1982), y de esta forma aliviar sus efectos en los brotes. Todo esto hace que las diferencias genotípicas que provocan que una planta sea o no tolerante, no se relacionen con los fenómenos de transporte u absorción, sino con la capacidad de asimilación de los brotes (Brown y Devine, 1980).

Caso muy distinto es el de plantas adaptadas a suelos alcalinos. El contenido de manganeso en el suelo o la eficiencia en la asimilación, tienen escasa importancia, puesto que el manganeso es fácilmente reducido por los microorganismos del suelo y por los exudados de las raíces en respuesta a la deficiencia de hierro inducida por el alto valor pH (Römheld et al., 1982).

Los síntomas más típicos de toxicidad de Mn son manchas marrones que se producen en hojas viejas, rodeadas por zonas cloróticas. En suelos ácidos, las altas concentraciones de manganeso inhiben la toma de hierro, calcio y magnesio. En dicotiledóneas, las hojas jóvenes adquieren un aspecto ondulado y las maduras desarrollan un moteado amarillo, síntomas claros de las deficiencias de Ca y Mg (Isermann, 1975, Heenan y Campbell, 1981, Foy et al., 1978 y 1981, Marschner, 1986). En hojas maduras de cultivares tolerantes, el Mn está uniformemente distribuido, mientras que las no tolerantes con idéntico contenido en Mn, desarrollan manchas en los lugares de acumulación del Mn, junto con

clorosis y necrosis generalizada (Horst, 1983).

La incidencia de la toxicidad de manganeso en leguminosas es especialmente grave puesto que limita la capacidad de fijar nitrógeno. Así, cuando hay un excesivo aporte de Mn, el contenido de nitrógeno de los brotes disminuye más drásticamente que en plantas no fijadoras (Döbereiner, 1966), debido al deterioro de la capacidad de nodulación de las raíces (Foy et al., 1978)

VI-A) Síntomas visuales de la toxicidad de manganeso

No hay síntomas típicos de toxicidad de Mn en los brotes. De cualquier forma éstos se han clasificado en tres grandes grupos:

- Los tejidos fisiológicamente más viejos que han dejado de crecer, desarrollan pequeñas manchas marrón oscuro, manchas amarillentas y clorosis en los bordes y ápices de las hojas (Horst, 1983)

- En hojas jóvenes en expansión, se produce una inhibición del crecimiento y tomando un aspecto ondulado (Horst y Marschner, 1978).

- Clorosis en las hojas jóvenes, producida por la deficiencia inducida de hierro (Amberger et al., 1982).

VII- Estado actual y perspectivas de futuro

Tras décadas de amplios y minuciosos estudios la deficiencia de manganeso en plantas sigue siendo un problema sin resolver y con una importante repercusión económica. Las investigaciones en este tema han suministrado información muy valiosa para profundizar en el conocimiento general de la nutrición vegetal, de su bioquímica y su fisiología.

A lo largo de este trabajo se han revisado los aspectos que hemos considerado más interesantes del manganeso, tanto en suelo como en planta, en la toma del elemento como en su transporte a la hoja. La distinta capacidad entre especies e incluso genotipos para absorber y/o utilizar el manganeso ha conducido a su catalogación en: "eficientes o susceptibles".

Las diferencias más acusadas, respecto a la deficiencia de este oligoelemento se da fundamentalmente entre plantas C_4 y C_3 y en estas últimas entre mono y dicotiledóneas.

El principal efecto de la deficiencia de manganeso en las hojas se localiza en los cloroplastos, alterando el sistema que realiza la fotólisis del agua. Esta circunstancia está siendo utilizada por nuestro grupo de trabajo como una nueva vía de experimentación aplicada a un mejor conocimiento del complejo sistema que produce el desprendimiento de oxígeno. Las investigaciones realizadas con plantas deficientes en manganeso dotadas de cloroplastos sin estructuras granales o bien muy poco desarrolladas, podrían contribuir a resolver o aclarar no pocas polémicas acerca de la función y estructura del PS2.

Por último, teniendo en cuenta que el manganeso es un factor limitante de la fotosíntesis, las plantas afectadas por su deficiencia pueden ser también un buen material para el estudio de determinados procesos implicados en el crecimiento y desarrollo en condiciones adversas. Esta investigación posibilitará un mejor conocimiento de las alteraciones relacionadas con la fotoinhibición, anomalías térmicas y otros tipos de estrés ambiental.

En base a los conocimientos adquiridos en el estudio del pa-

pel del manganeso en la fisiología vegetal y teniendo en cuenta que la eficiencia respecto a este elemento está ligada a la dotación génica de la planta, se abren amplias perspectivas de futuro mediante la aplicación de las modernas técnicas que ofrecen la Biología Molecular y la Ingeniería Genética. Por tanto, será labor de especialistas en las dos disciplinas indicadas, la creación de nuevas variedades eficientes en la regulación en la toma de este microelemento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean reconocer la ayuda de Dña M^a Angeles Gracia y las facilidades prestadas por el personal del Biblioteca de la Estación Experimental de Aula Dei.

RESUMEN

A lo largo de este trabajo se han revisado los aspectos metabólicos en los que está implicado el manganeso, tanto en el suelo como en la planta, desde su toma por las raíces, hasta su transporte y función en la hoja. También se ha descrito la distinta capacidad entre especies e incluso genotipos para absorber y/o utilizar el manganeso, que ha conducido a su catalogación en: "eficientes o susceptibles", siendo las diferencias más acusadas, respecto a la deficiencia de este oligoelemento, las se dan fundamentalmente entre plantas C₄ y C₃ y en estas últimas entre mono y dicotiledóneas.

A nivel celular, el manganeso interviene, bien como grupo prostético o como catalizador de numerosas enzimas, entre las que cabe destacar la superóxido dismutasa. Se ha incidido especialmente en la implicación del manganeso en la fotólisis del agua, recogiendo los resultados obtenidos mediante las más modernas técnicas aplicadas al estudio estructural y funcional de este oligoelemento. Finalmente se ha hecho un sumario de los efectos metabólicos y visuales producidos por la deficiencia y toxicidad de manganeso.

REFERENCIAS

- Abadía, J., Nishio, J.N. y Terry, N. (1986) Chlorophyll-protein and polypeptide composition of Mn-deficient sugar beet thylakoids. *Photosynthesis Research* 7: 237-245.
- Abbott, J. (1967) Physiological effects of micronutrient deficiencies in isolated roots of *Lycopersicon esculentum*. *The New Phytologist*. 66: 419-437.
- Adeny W.F. (1894) On the reduction of manganese peroxide in sewage. *Science Proceedings of the Royal Society of the Dublin National Sciences*. 3: 247-251.
- Amberger, A. (1973) Die rolle des mangans in Stoffwechsel der Pflanzen. *Agrochimica* 17: 69-83.
- Amberger, A. (1974) Micronutrient dynamics in the soil and functions in plant metabolism. *Proceedings of the Egyptian Bo-*

- tanical Society. Workshop 1: 91-101.
- Amberger, A., Gutser, R. y Wunsch, A. (1982) Iron chlorosis induced by high copper and manganese supply. *Journal of Plant Nutrition*. 5: 715-720.
- Amesz, J. (1983) The role of manganese in photosynthetic oxygen evolution. *Biochimica et Biophysica. Acta* 726:1-12.
- Anderson, J.M. y Pyliotis, N.A. (1969) Studies with manganese deficient spinach chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta* 189: 280-293.
- Asada, K., Urano, M. y Takahashi, M. (1973) Subcellular localization of superoxido dismutase in spinach leaves and preparation and properties of crystalline spinach superoxidodismutase. *European Journal of Biochemistry*. 36: 257-266.
- Babcock, G.T. (1987) The photosynthesis oxygen-evolving process. En: *Photosynthesis in New Comparative Biochemistry*. 15: 125-158.
- Barber, J. (1984) Has the manganese-protein of the water splitting reactions of photosynthesis been isolated?. *Trends Biochem. Sci.* (March) 9: 79-80.
- Bar-Akiva, A. y Lavon, R. (1967) Visible symptoms and metabolic patterns in micronutrient-deficient Eureka lemon leaves. *Israel Journal of Agricultural Research*. 17: 7-16.
- Barlett, R.J. (1986) Soil redox behaviour. In *Soil Chemistry*. Ed. DL Sparks. pp: 179-207. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Beijerinck, M.W. (1913) Oxidation der mangancarbonates durch bakterien und schimmelpilze. *Folia Microbiologica (Delft)* 2: 123-124.
- Braun, J.A. y Scandalios, J.G. (1979) Developmental expression and intracellular localization of superoxide dismutase in maize. *Differentiation* 13: 133-140.
- Bridges, S.M. y Salin, M.L. (1981) Distribution of iron-containing superoxide dismutase in vascular plants. *Plant Physiol*. 68: 275-278.
- Brown, J.C. y Devine, T.E. (1980) Inheritance of tolerance to manganese toxicity in soybeans. *Agronomy Journal*. 72:898-904.
- Brown, P.H., Graham, R.D. y Nicholas, D.J.D. (1984) The effects of manganese and nitrate supply on the levels of phenolics and lignin in young wheat plants. *Plant and Soil* 81: 437-440.
- Brudvig, G.W. (1988) Involvement of Manganese in Photosynthetic Water Oxidation. En: *Metal Clusters in proteins*. (Que, L. ed.) pp. 221-237. American Chemical Society, Washington.
- Brudvig G.W., Beck, W.F. y De Paula J.C. (1989) Mechanism of photosynthetic water oxidation. En: *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry Vol 18*.
- Burnell, J.N. (1986) Photosynthesis in phosphoenolpyruvate carboxykinase-type C_4 plants. Properties of NAD-malic enzyme from *Urocloa panicoides*. *Australian Journal of Plant Physiology*. 14: 517-525.
- Burnell, J.N. y Hatch, M.D. (1988) Photosynthesis in phosphoenolpyruvate carboxykinase type C_4 plants. Photosynthetic activities of isolated bundle sheath cells from *Urocloa panicoides*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 260: 177-186
- Burnell, J.N. (1988) The biochemistry of manganese in plants. In: *Manganese in soils and plants*. (Eds. Graham, R.D., Hannam,

- R.J. and Uren) pp: 125-137. Kluwer Academic Publishers.
- Campbell, L.C. y Nable, R.O. (1988) Physiological functions of manganese in plants. In: Manganese in soils and plants. (Eds. Graham, R.D., Hannam, R.J. and Uren) pp: 87-98. Kluwer Academic Publishers.
- Clarkson, D.T. (1989) Uptake and translocation by roots. In *Micronutrient News*. eds Micronutrient Bureau. Vol. 9 (2).
- Clarkson, D.T. y Hanson, J.B. (1980) The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 31: 239-298.
- Coleman, W.J. y Govindjee, (1987) A model for the mechanism of chloride activation of oxygen evolution in photosystem II. *Photosynthesis Research*. 13: 199-223.
- Constantopoulos, G. (1970) Lipid metabolism of manganese deficient algae. Effect of manganese deficiency on the greening and the lipid composition of *Euglena gracilis*. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 45:76-80.
- Cooper, E. E., Girton, R.E. (1963) Physiological effects of manganese deficiency related to age in soybeans (*Glycine max.*). *American Journal of Botany*. 50: 105-110.
- Coppenet, M. (1968) Les oligoéléments. *Bulletin Technique D'Information*. 231:596-608.
- Cheniae, G. y Martin, I.F. (1968) Sites of manganese function in photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 153: 819-837.
- Cheniae, G.M. y Martin, I.F. (1969) Photoreactivation of manganese catalyst in photosynthetic oxygen evolution. *Plant Physiology*. 44: 351-360.
- Cheniae, G.M. (1970) Photosystem II and oxygen evolution. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 21: 467-498.
- Chia, L.S. Thompson, J.E. y Dumbroff, E.M. (1981) Simulation of the effects of leaf senescence on membranes by treatment with paraquat. *Plant Physiol*. 67: 415-420.
- Christeller, J.T. y Laing, W.A. (1979) Effects of manganese ions and magnesium ions on the activity of soya-bean ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase. *Biochemical Journal*. 183: 747-750.
- Christou, G. y Vincent, J.B. (1988) Structural types in oxide-bridged manganese chemistry. Toward a model of the photosynthetic water oxidation centre. En: *Metal Clusters in proteins*. (Ed. L. Que). pp. 239-255. American Chemical Society, Washington.
- Del Rio, L.A., Lyon, D.S., Olah, I., Glick B. y Salin, M.L. (1983) Immunocytochemical evidence for a perixomal localization of manganese superoxide dismutase in leaf protoplasts from a higher plant. *Planta*. 15: 216-224.
- Diekert, J.W. y Rozocky, E. (1969) Isolation and partial characterization of manganin, a new manganoprotein from peanut seeds. *Arch. Biochem. Biophys*. 134: 473-477.
- Dismukes, G.C. (1988) The spectroscopically derived structure of the manganese site for photosynthetic water oxidation and a proposal for the protein-binding sites for calcium and manganese. *Chemica Scripta*. 28:99-104.
- Döbereiner, J. (1966) Manganese toxicity effects on nodulation and nitrogen fixation of beans (*Phaseolus vulgaris*) in acid soils. *Plant and Soil*. 24: 153-166.
- Edwards, D.G. y Asher, C.J. (1982) Tolerance of crop and pasture

- species to manganese toxicity. En: Proceedings of the Ninth Plant Nutrition Colloquium, Warwick, England (Scaife, A. ed.) pp. 145-150. Commonwealth Agricultural Bureau. Farnham Royal. Bucks.
- Edwards, G. y Walker, D. (1983) C_3 , C_4 : Mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell. Oxford.
- Ehrlich, H.L. (1978) Inorganic energy source for chemolithotrophic and mixotrophic bacteria. *Geomicrobiological Journal*. 1:65-83.
- Ehrlich, H.L. (1987) Manganese oxido reduction as a form of aerobic respiration. *Geomicrobiological Journal*. 5: 423-431.
- Ellis, B.G. y Knezek, B.D. (1972) Adsorption reactions of micronutrients in soils. En: *Micronutrients in Agriculture*. Soil Science Society of America, Madison, USA. 4: 59-78.
- Elstener, E.F. (1982) Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 73-96.
- Eltinge, E.T. (1941) Effect of manganese deficiency upon the histology of *Lycopersicum esculentum*. *Plant Physiology*. 16: 189-195.
- Epstein, E. (1971) Mineral nutrition of plants: Principles and Perspectives. pp 285-322. Wiley, New York.
- Farley, R.F. y Draycott, A.P. (1973) Manganese deficiency of sugar beet in organic soil. *Plant and Soil*. 38: 235-244.
- Fernandez, V.M.; Sevilla, F.; Gorge, J.L.; y Del Rio, L.A. (1982) Evidence for manganese (III) binding to the manganese superoxide dismutase from a higher plant (*Pisum sativum* L.). *J. Inorg. Biochem.* 16: 79-84.
- Foster, J.G. y Edwards, G.E. (1980) Localization of superoxide dismutase in leaves C_3 y C_4 plants. *Plant and Cell Physiology*. 21: 895-906.
- Foy, C.D., Chaney, R.L. y White, M.C. (1978) The physiology of metal toxicity in plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 29: 511-566.
- Foy, C.D., Webb, H.W. y Jones, J.E. (1981) Adaptation of cotton genotypes to an acid, manganese toxic soil. *Agronomy Journal*. 73: 107-111.
- Fridovich, I. (1975) Superoxide dismutase. *Ann. Rev. Biochem.* 44: 147-159.
- Fujimoto, S., Ohara, A. y Uehara, K. (1980) Carbohydrate and metal analysis of violet-colored acid phosphatase of sweet potato. *Agricultural and Biological Chemistry*. 44: 1659-1660.
- García, J.E., Gómez, M., Yáñez, J., López-Gorgé, J. y del Rio, L.A. (1981) Isozyme pattern of the metallo enzyme system superoxide dismutase during growth of peas (*Pisum sativum* L.) under different iron nutrient concentrations. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 105: 21-29.
- Geering, H.R., Hodgson, J.F. y Sdano, C. (1969) Micronutrient cation complexes in soil solution: IV. The chemical state of manganese in soil solution. *Soil Science Society American Proceedings*. 33: 81-85.
- George, G.N., Prince, R.C. y Cramer, S.P. (1989) The manganese site of the photosynthetic water-splitting enzyme. *Science*. 243: 789-791.
- Ghanotakis, D.F. (1990) *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 41: 255-276.

- Ghiorse, W.C. (1984) Biology of iron and manganese depositing bacteria. *Annual Review of Microbiology*. 38: 515-550.
- Ghiorse, W.C. (1988) The biology of manganese transforming microorganisms in soils. En: *Manganese in soils and plants* pp. 75-85 (Graham, Hannam and Uren, eds.). Kluwer Academic Publishers.
- Godo-Gnahoua, H. y Reisenauer, H.M. (1980) Plant effects on soil manganese availability. *Soil Science Society American Journal*. 44: 993-995.
- Govindjee y Coleman, W.J. (1990) Cómo producen oxígeno las plantas. *Investigación y Ciencia*. 163: 50-57.
- Graham, R.D. (1979) Transport of copper and manganese to the xylem exudate of sunflower. *Plant, Cell and Environment*. 2: 139-143.
- Gross, G.G. (1980) The biochemistry of lignification. *Advances in Botanical Research*. 8: 26-63.
- Halliwel, B. (1984) Chloroplast metabolism. The structure and function of chloroplasts in green leaf cells. Oxford Science Publications.
- Harkin, J.M. y Obst, J.R. (1973) Lignification in trees: indication of exclusive peroxidase participation. *Science*. 180: 296-298.
- Hayakawa, T.; Kanematsu, S. y Asada, K. (1985) Purification and characterization of thylakoid bound Mn-superoxide dismutase in spinach chloroplasts. *Planta* 166: 111-116.
- Heenan, D.P. y Carter, O.G. (1977) Influence of temperature on the expression of manganese toxicity by two soybean varieties. *Plant and Soil* 47:219-227.
- Heenan, D.P. y Campbell, L.C. (1980) Soybean nitrate reductase activity influenced by manganese nutrition. *Plant Cell Physiol*. 21: 731-736.
- Heenan, D.P. y Campbell, L.C. (1981) Influence of potassium and manganese on growth and uptake of magnesium by soybeans (*Glycine max* L. Merr. cv. Bragg). *Plant and Soil*. 61: 447-456.
- Hefler, S.K. y Averill, B.A. (1987) The manganese(III)-containing purple acid phosphatase from sweet potatoes is an iron enzyme. *Biochemistry and Biophysics Research Communications*. 146: 1173-1177.
- Hem, J.D. (1964) Deposition and solution of manganese dioxides. US Geological Survey of Water Supply Paper 1667-B.
- Hewitt, E.J. (1970) Physiological and biochemical factors which control the assimilation of inorganic nitrogen supplies by plants. En: *Nitrogen nutrition of the plant*. (Kirkby, E.A. ed.). pp.78-103. The University of Leeds.
- Hewitt, E.J. y Smith, T.A. (1974) *Plant mineral nutrition*. pp. 104-126. English Universities Press. London.
- Hewitt, E.J. y Needham, P. (1983) *Diagnosis of mineral disorders in plants*. (Robinson, J.B.D. Ed.). Vol. 1. Her Majesty's Stationery Office. Londres.
- Horst, W.J. y Marschner, H. (1978) Effect of silicon on manganese tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Plant and Soil*. 72: 50: 287-303.
- Horst, W.J. (1983) Factors responsible for genotypic manganese tolerance in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Plant and Soil*. 72: 213-218.
- Horst, W.J. (1988) The physiology of manganese toxicity. In: *Man-*

- ganese in soils and plants. (Graham, R.D., Hannam, R.J. y Uren, eds.) pp: 175-188. Kluwer Academic Publishers.
- Huber D.M. y Wilhelm, N.S. (1988) The role in resistance to plant diseases. En: Manganese in soils and plants. (Graham, R.D., Hannam, R.J. y Uren, eds.) pp: 155-173. Kluwer Academic Publishers.
- Hundal, T., Virgin, I., Styring, S. y Anderson, B. (1990) Changes in the organization of photosystem II following light-induced D₁-protein degradation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1017: 235-241.
- Isermann, K. (1975) Mögliche Ursachen der mangan-toleranz bestimmter Reis-Sorten. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*. 138: 235-247.
- Jackson, M.B. Dench, J., Moore, A.L., Holliwell, B., Foyer, C.H. y Hall, D.O. (1978) Subcellular localization and identification of superoxide dismutase in the leaves of higher plants. *Eur. J. Biochem.* 91: 339-344.
- Jauregui, M.A. y Reisenauer, H.M. (1982) Disolution of oxides of manganese and iron by root exudate components. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 46: 314-317.
- Kok, B., Forbush, B. y McGloin, M. (1970) Cooperation of charges in photosynthetic oxygen evolution. I. A linear four step mechanism. *Photochemistry and Photobiology*. 11: 457-475.
- Kriedemann, P.E., Graham, R.D. y Wiskich, J.T. (1985) Photosynthetic dysfunction and in vivo changes in chlorophyll a fluorescence from manganese-deficient wheat leaves. *Australian Journal of Agricultural Research*. 36: 157-169.
- Kriedemann P.E. y Anderson, J.E. (1988) Growth and photosynthetic responses to manganese and copper deficiencies in wheat (*Triticum aestivum*) and barley grass (*Hordeum glaucum*). *Australian Journal of Plant Physiology*. 15: 429-446.
- Lagoutte B. y Duranton, J. (1975) A manganese protein complex within the chloroplast structure. *FEBS Letters*. 51: 1.
- Leeper, G.W. (1947) The forms and reactions of manganese in the soil. *Soil Science*. 63:79-94.
- Lerer, M. y Bar-Akiva, A. (1976) Nitrogen constituents in manganese-deficient lemon leaves. *Physiologia Plantarum*. 38: 13-18.
- Lerer, M. y Bar-Akiva, A. (1979) Effect of manganese deficiency on chloroplast of lemon leaves. *Physiol. Plantarum* 42: 163-166.
- van Leeuwen, P.J., Vos, M.H. y van Gorkom, H.J. (1990) Photosynthetic oxygen evolution. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1018: 173-176.
- Lindsay, W. L. (1972) Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. In: *Micronutrients in Agriculture*. Soil Science Society of America, Madison, USA. 3: 41-59.
- Lindsay, W.L. (1979) *Chemical equilibria in soils*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Loneragan, J.F. (1988) Distribution and movement of manganese in plants. En: Manganese in soils and plants. (Graham, R.D., Hannam, R.J. y Uren, eds.) pp: 113-124. Kluwer Academic Publishers.
- Loomis, W.D. (1974) Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. *Meth-*

- ods in *Enzymology*. 31: 528-544.
- López-Gorgé, J. y Chueca, A. (1986) Papel biológico de los nutrientes en la planta. En: *Nutrición Vegetal. Algunos Aspectos químicos y biológicos.* (Lachica, M. y Gonzalez, C. eds.) pp. 1-43. Organización de las Naciones Unidas Para la Educación y la Cultura. Sevilla.
- Lucas, R.L. y Knezek, B.D. (1972) Climatic and soil conditions promoting micronutrient deficiencies in plants. En: *Micronutrients in Agriculture*, Soil Science Society of America, Madison, USA. 12: 265-288.
- Lytleton, J.W. (1960) Stabilization by manganese ions of ribosomes from embryonic plant tissue. *Nature*. 187: 1026-1027.
- Maas, E.V., Moore, D.F. y Mason, B.J. (1969) Influence of calcium and magnesium on manganese absorption. *Plant Physiology*. 44: 796-800.
- Marschner, H. (1983) General introduction to the mineral nutrition of plants. En: *Encyclopaedia of Plant Physiology*, New Series. (Läuchli, A. y Bielecki, R.L. eds.) Vol 15, pp.5-60. Springer-Verlag. Berlin.
- Marshner, H. (1986) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. London.
- McKenzie, R.M. (1988) Manganese oxides and hydroxides. En: *Minerals in Soil Environments* (Dixon, J.B. y Weed, S.B. eds). Soil Science Society of America, Madison, USA.
- Meek, B.D., MacKenzie, A.J. y Grass, L.B. (1968) Effects of organic matter, flooding time and temperature on the dissolution of iron and manganese in soil. *Soil Science Society of America Proceedings*. 32: 634-638.
- Mengel, K. y Kirkby, E.A. (1982) Principles of plant nutrition. International Potash Institute. Berna.
- Mercer, F.V., Nittin, N. y Possingham, J.V. (1962) The effect of manganese deficiency on the structure of spinach chloroplasts. *J. Cell Biol.* 15: 379-381.
- Moore, D.P. (1972) Mechanisms of micronutrient uptake by plants. En: *Micronutrients in Agriculture*. Soil Science Society of America, Madison, USA 8: 171-198.
- Morgan, P.W., Taylor, D.M. y Joham, H.E. (1976) Manipulation of IAA-oxidase activity and auxine-deficiency symptoms in intact cotton plants with manganese nutrition. *Plant physiology*. 37: 149-156.
- Nable, R.O. (1983) Translocation of manganese in subterranean clover and its relation to deficiency diagnosis. Ph.D. Thesis, Murdoch University, West Australia.
- Nable, R.O., Bar-Akiva, A. y Loneragan, J.F. (1984) Functional manganese requirement and its use as a critical value for diagnosis of manganese deficiency in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L. cv. Seaton Park). *Annals of Botany*. 54: 39-50.
- Navarro, S., Carpena, O., García, A.L. y Costa, F. (1972) Amino acids and other nitrogen fractions in normal citrus leaves deficient in iron and manganese. En: *IX Simposio Internazionale di Agrochimica, La Fitonutrizione Oligominerale*. pp. 208-220.
- Nelson, K.H. (1983) Microbial oxidation and reduction of manganese and iron. En: *Biomineralization and metal accumulation* (Westbroek, P y de Jong, E.W. eds.) pp. 459-487.

- Reidel, Boston.
- Ness, P.J. y Woolhouse, H.W. (1980) RNA synthesis in *Phaseolus* chloroplasts. I. Ribonucleic acid synthesis and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*. 31: 223-233.
- Nicholas, D.J.D. (1961) Minor elements. *Annual Review of Plant Physiology*. 12: 63-90.
- Ohki, K., Wilson, D.O. y Anderson, O.E. (1981) Manganese deficiency and toxicity sensitivities of soybean cultivar. *Agronomical Journal*. 72: 713-716.
- O'Leary, M.H., Rife, J.E. y Slater, J.D. (1981) Kinetic and isotope effect studies of maize phosphoenolpyruvate carboxylase. *Biochemistry* 20: 7308-7314.
- Palma, J.M., Sandalio L.M. y Del Rio, L.A. (1986) Manganese superoxide dismutase and higher plant chloroplasts: A reappraisal of a contraverted cellular localization. *J. Plant Physiology*. 125: 427-439.
- Pirson, A. (1937) Ernährung und stoffwechselphysiologische untersuchungen an *Frontalis* und *Chlorella*. *Zeitschrift für Botanische*. 31: 193-267.
- Possingham, J.V., Vesk, M. y Mercer, F.V. (1964) The fine structure of leaf cells of manganese deficient spinach. *J. Ultrastruct. Res.* 11: 68-83.
- Powles, S.B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology*. 35:15-44.
- Prince, R.C. (1986) Manganese at the active site of the chloroplast oxygen-evolving complex. *Trends in Biochemical Sciences*. 132: 491-492.
- Pryor, W.A. (1976) The role of free radical reactions in biological systems. In *Free Radicals in Biology*. Ed W.A. Pryor pp 1-49. Academic Press, New York.
- Przemek, E. y Schrader, B. (1981) The effect of manganese nutrition on nitrogen assimilation in roots. *Plant and Soil* 63: 5-9.
- Rabinowitch, H.D. y Fridovich, I. (1983) Superoxide radicals. Superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants. *Photochem. Photobiol.* 37: 679-690.
- Rao, N.R., Naithani, S.C., Jasdanwala, R.T. y Sintgh, Y.D. (1982) Changes in indolacetic acid oxidase and peroxidase activities during cotton fibre development. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 106: 157-166.
- Reisenauer, H.M. (1988) Determination of plantavailable soil manganese. En: *Manganese in soils and plants*. (Graham, R.D., Hannam, R.J. y Uren, eds.) pp: 87-98. Kluwer Academic Publishers.
- Robinson, J.M., Smith, M.G. y Gibbs, M. (1980) Influence of hydrogen peroxide upon carbon dioxide photoassimilation in the spinach chloroplast. *Plant Physiology*. 65: 755-759.
- Römheld, V., Marschner, H. y Kramer, D. (1982) Response to Fe deficiency in roots of "Fe efficient" plant species. *Journal of Plant Nutrition*. 5: 489-498.
- Rufty, T.W., Miner, W.S. y Raper, C.D. (1979) Temperature effects on growth and manganese tolerance in tobacco. *Agronomical Journal*. 71: 638-644.
- Rutherford A. W. (1989) Photosystem II. The watersplitting enzyme. *Trends in Biochemical Sciences* 14: 227-232.
- Sandalio, L.M., Palma, J.M. y Del Rio (1987) Localization of man-

- ganese superoxide dismutase in peroxisomas isolated from Pisum sativum L. *Plant Science* 51: 1-8.
- Sandalio, L.M. y Del Rio, L.A. (1987) Localization of superoxide dismutase in glyoxysomes from Citrulus vulgaris. Functional implications in cellular metabolism. *J. Plant Physiol.* 127: 395-409.
- Sandmann, G. y Boger, P. (1983) The enzymatological function of heavy metals and their role in electron transfer processes of plants. En: *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*. (Läuchli, A. y Bielsky, L., eds.) Vol 15A. pp. 563-596. Springer-Verlag. Berlin
- Sauer, K. (1980) A role for manganese in oxygen evolution in photosynthesis. *Accoynts of Chemical Research.* 13: 256- 262.
- Scaife, A. y Turner, M. (1983) Diagnosis of mineral disorders in plants. *Vegetables* (Robinson, J.B.D. Ed.). Vol. 2. Her Majesty's Stationery Office. Londres.
- Sevilla, F., López-Gorgé, J. Gómez, M. y Del Río, L.A. (1980) Manganese superoxide dismutase from higher plant. Purification of a new Mn-containing enzyme. *Planta.* 153-157.
- Sevilla, F., López-Gorgé y Del Río, L.A. (1980) Charectization of a manganese superoxide dismutase from the higher plant Pisum sativum. *Plant. Physiol.* 70:1321-1326.
- Simpson D.J. y Robinson, S.P. (1984) Freeze-fracture ultrastructure of the thylakoid membranes in chloroplasts from manganese deficient plants. *Plant Physiology.* 74: 735-741.
- Spencer, D. y Possingham, J.V. (1960) The effect of nutrient deficiencies on the Hill reaction of isolated chloroplasts from tomato. *Australian Journal of Biological Science.* 13: 441-455.
- Stevenson, F.J. (1982) *Humus Chemistry. Genesis, composition, reactions.* John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Steward, F.C. y Margolis, D. (1962) The effects of manganese upon the free amino acids y amides of the tomato plant. *Contributions of Boyce Thompson Institute.* 21: 393-409.
- Tiffin, L.O. (1972) Translocation of micronutrients in plants. En: *Micronutrients in Agriculture.* Soil Science Society of America, Madison, USA. 9: 199-229.
- Timonin, M.E. (1965) Interaction of higher plants and soil microorganisms. En: *Microbiology and Soil Fertility* (Gilmore, C.M. y Allen, O.N., eds) pp 135-138. Oregon State Univ. Press, Corvallis. USA
- Uehara, K., Fujimoto, S. y Taniguchi, T. (1974a) Studies on violet-colored acid phosphatase of sweet potato. I. Purification and some physical properties. *Journal of Biochemistry.* 75: 627-638.
- Uehara, K., Fujimoto, S. y Taniguchi, T. (1974b) Studies on violet-colored acid phosphatase of sweet potato. II. Enzymatic properties and amino acid composition. *Journal of Biochemistry.* 75: 639-649.
- Vass, I., Deák, Z. y Hideg, E. (1990) Charge equilibrium between the water-oxydizing complex and the electron donor tyrosine-D in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1017: 63-69.
- Vaughn K.C. y Duke, S.O. (1984) Function of polyphenol oxidases in higher plants. *Physiologia Plantarum.* 60: 501-508.
- Vlavis, J. y Williams, D.E. (1962) Ion competition in manganese

- uptake by barley plants. *Plant Physiol.* 37:650-655. In: *Manganese in soils and plants.* (Graham, R.D., Hannam, R.J. y Uren, eds.) pp: 87-98. Kluwer Academic Publishers.
- Vielemeyer, H.P., Fisher, F. y Bergmann, W. (1966) Über den einfluss der eisen-und manganernährun auf die peroxidase-und katalaseaktivität sowie den gehalt an löslichen kohlenhydraten in den blättern einiger landwirtschaftlicher kulturpflanzen. *Albrecht Thaer Arch.* 10: 727-745.
- Wedepohl, K.H. (1978) Manganese. En: *Handbook of Geochemistry,* (Wedepohl, K.H. ed.). Springer Verlag. Berlin.
- Weiland, R.T., Noble, R.D. y Crang R.E. (1975) Photosynthesis and chloroplast ultrastructural consequences of manganese deficiency in soybean. *American Journal of Botany.* 62: 501-508.
- White, J. y Scandalios, J.G. (1987) The compartmentization of the maize manganese superoxide dismutase. *Plant Physiology. Supp.* p. 106.
- Winsor, G. y Adams, P. (1987) Diagnosis of mineral disorders in plants. *Glasshouse Crops.* (Robinson, J.B.D. Ed.) Vol. 3. Her Majesty's Stationery Office. London.
- Wong, M.H. y Bradshaw, A.D. (1982) A comparison of the toxicity of heavy metals using root elongation of rye grass, *Lolium perenne.* *The New Phytologist.* 91: 255-261.
- Yamada, Y., Tang, X.S., Itah, S. y Satoh, K. (1987) Purification and properties of an oxygen-evolving photosystem II reaction-center complex from spinach. *Biochimica et Biophysica Acta.* 891:129-137.
- Yocum, C.F., Yerkes, C.T., Blankenship, R.E., Sharp, R.R., Babcock, G.T. (1981) Stoichiometry, inhibitor sensitivity and organization of manganese associated with photosynthesis oxygen evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 78:7507-7511.