

RESPUESTAS DE PLANTAS JÓVENES DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) AL MULTIESTRES EN FUNCIÓN DE LA APLICACIÓN SUPLEMENTARIA DE CALCIO Y POTASIO

ROBERTO CAPULA RODRÍGUEZ

TESIS

Presenta como Requisito Parcial para

Obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre 2014



Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
Subdirección de Postgrado

**RESPUESTAS DE PLANTAS JÓVENES DE TOMATE (*Solanum
lycopersicum* L.) AL MULTIESTRES EN FUNCIÓN DE LA
APLICACIÓN SUPLEMENTARIA DE CALCIO Y POTASIO**

TESIS POR

ROBERTO CAPULA RODRÍGUEZ

Elaborado bajo la Supervisión del Comité Particular de Asesoría y Aprobada
como Requisito Parcial para Optar al Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

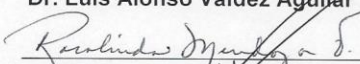
COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal:



Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar

Asesor:

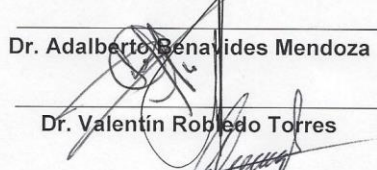


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor:

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:



Dr. Valentín Robledo Torres

Dr. Fernando Ruiz Zárate

Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila. Septiembre 2014

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIAS	vi
COMPENDIO	vii
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Estrés	5
Tipos de estrés	6
Alcalinidad	8
Efecto de alcalinidad en plantas	9
Salinidad	10
Salinidad en plantas	11
Toxicidad por boro	12
Tolerancia a toxicidad por boro	13
Calcio en las plantas	14
Potasio en las plantas	15
ARTÍCULO	17
CONCLUSIONES GENERALES	33
LITERATURA CITADA	34

ÍNDICE DE TABLAS

Table 1. Stress conditions and calcium (Ca) and potassium (K) concentrations imposed for 30 days to tomato plants.....	23
Table 2. Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on growth parameters of tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).....	25
Table 3. Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on chlorophyll (Chlo) concentration, antioxidant compounds and water status in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).	26
Table 4. Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on nutrient, sodium and chloride concentration in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).	27
Table 5. Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on nutrient, sodium and chloride content (mmol plant^{-1}) in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).....	28

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Por permitirme continuar con mi formación profesional en el noble oficio de la agronomía.

A mis Asesores

Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar por su dedicación y paciencia en la elaboración de este proyecto de investigación así como por los conocimientos transmitidos dentro y fuera del aula de clases, Gracias.

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal por el apoyo para la realización del proyecto de investigación y la educación brindada en el aula de clase.

Dr. Adalberto Benavides Mendoza por el apoyo para la revisión del presente trabajo de investigación y por las clases de gran calidad impartidas.

Dr. Valentín Robledo Torres por el apoyo en la revisión del presente proyecto de investigación.

A los Catedráticos

Con los que tuve la oportunidad para convivir y adquirir varios conocimientos sobre la horticultura en estos dos años.

A los compañeros y amigos

Neymar, Gibran, Viviana, Alfredo, Victor, Dagoberto, Daily, Martell, Fabián, Oscar, Armando, Eliseo, etc.

Que brindaron su amistad durante la especialización por sus ideas y consejos transmitidos.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Rolando Capula Vaquero y Silvina Rodríguez Huerta por el apoyo incondicional durante toda la vida y principalmente en la etapa de formación profesional. Por los esfuerzos y sacrificios para lograr de mi alguien de provecho en la vida, por las enseñanzas, consejos. ¡GRACIAS!

A MIS HERMANOS

IRENE, JUAN, PEDRO, DANIEL, LUIS

A los hermanos que se encuentran lejos de la familia y que apoyaron de una u otra forma para mi formación profesional por los consejos y sugerencias que día a día aportaron depositando su confianza para lograr algo nuevo para la familia.

A MIS SOBRINOS

Yahelin, Brian, Kevin, Yahel, Yoselin, Nayeli

A pesar de no convivir directamente con algunos de ellos les dedico el fruto de estos dos años de trabajo y esfuerzo con el fin de motivar en ellos la inquietud del estudio ya que es la mejor forma de salir adelante en estos tiempos complicados.

COMPENDIO

RESPUESTAS DE PLANTAS JÓVENES DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) AL MULTIESTRES EN FUNCIÓN DE LA APLICACIÓN SUPLEMENTARIA DE CALCIO Y POTASIO

POR

ROBERTO CAPULA RODRÍGUEZ

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

Saltillo, Coahuila. Septiembre 2014

Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar -Asesor-

Palabras clave: Salinidad; Alcalinidad; Boro; Estrés; Cultivo sin suelo; Nutrición de plantas.

Las plantas son afectadas por gran variedad de factores ambientales bióticos y abióticos como sequia, agua de mala calidad, salinidad, alcalinidad, o elementos en concentraciones perjudiciales para la agricultura. La salinidad es causada por exceso de iones como sodio (Na), calcio (Ca), magnesio (Mg), cloro (Cl), sulfatos (SO_4^{2-}) y bicarbonatos (HCO_3^-). Sin embargo el NaCl es la sal dominante en la naturaleza ocasionando trastornos por estrés iónico y osmótico presentándose problemas para absorber agua y minerales. La alcalinidad en el agua es producida por HCO_3^- y carbonatos principalmente, ocasionando aumento de pH de la solución y creando problemas en crecimiento, calidad y comerciabilidad de las plantas por disminución de solubilidad de nutrientes como fósforo (P) y micronutrientes, principalmente hierro (Fe), el cual induce clorosis en hojas jóvenes. Altas concentraciones de boro (B) ejercen problemas como reducción de división celular en la raíz, clorofila en hojas jóvenes, contenidos y tasas fotosintéticas, etc. El Ca es un segundo mensajero participando en respuestas ante casi todo tipo de estrés tanto biótico como abiótico en plantas, el potasio (K) es de especial importancia por sus funciones ante el estrés principalmente salino, manteniendo la homeostasis de la planta. El tomate es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial principalmente por la producción en invernadero. El presente estudio se realizó para evaluar la respuesta del tomate expuesta a estrés simultáneo causado por salinidad, alcalinidad y alta concentración de B en el agua de riego y aplicación suplementaria de K y Ca. Plantas inducidas a multiestrés mostraron una reducción de la biomasa en la parte aérea, raíz y total en comparación en las plantas control, sin embargo el efecto negativo fue

aminorado al suplementar Ca y K en la solución nutritiva. Se observó mayor contenido de clorofila en plantas estresadas, debido probablemente a una reducción de la expansión de la hoja, la actividad de la catalasa y el contenido relativo de agua se redujeron en las plantas estresadas. El contenido total de nitrógeno y K fue reducido en plantas regadas con agua de mala calidad, sin embargo fue regenerada parcialmente cuando se adicionaron el Ca y K en la solución nutritiva. El contenido de B y Na fue mayor en plantas inducidas a multiéstrés y la aplicación adicional de Ca y K no redujo la concentración de dichos elementos. La concentración de P, Ca y Mg aumentó en plantas regadas con agua de mala calidad independientemente de la concentración de Ca y K en la solución nutritiva pero no fueron significativamente diferentes con el contenido detectado en plantas control.

ABSTRACT

RESPONSES OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) YOUNG PLANTS TO MULTISTRESS AS AFFECTED BY SUPPLEMENTARY APPLICATION OF CALCIUM AND POTASSIUM

BY

ROBERTO CAPULA RODRÍGUEZ

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIAN ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila. September 2014

Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar -Advisor-

Keywords: Salinity; alkalinity; boron; stress; Soilless-culture; Plant nutrition.

Plants are affected by numerous biotic and abiotic environmental factors such as drought, poor quality of irrigation water, salinity, alkalinity, and/or toxic concentrations of elements. Salinity is caused by an excess of ions such as sodium (Na), calcium (Ca), magnesium (Mg), chloride (Cl), sulphate (SO_4^{2-}) and bicarbonate (HCO_3^-). However, NaCl is the most dominant salt in nature causing ionic and osmotic stress as well as reduction in water and mineral uptake by plants. Alkalinity in water is produced mainly by HCO_3^- and carbonates, bringing

about an increase in solution pH, reduction in growth and marketability of plants due to the decreased solubility of nutrients such as phosphorus (P) and micronutrients, mainly iron (Fe), that induce chlorosis in young leaves. High concentrations of B reduce cell division in roots and chlorophyll y young leaves, as well as decreased photosynthesis rate. Calcium is a secondary messenger that participates in plant responses to all kind of biotic and abiotic stress, whereas potassium (K) is important due to its role in salinity stress and maintenance of homeostasis in plants. Tomato is the most important greenhouse vegetable grown worldwide. The present study was conducted in order to assess the response of young tomato plants to the simultaneous stress caused by high salinity, alkalinity and B concentration in irrigation water when supplementary Ca and K was added in the nutrient solution. Simultaneous stress caused biomass reduction in shoots and roots, however, the deleterious effect was reduced when stressed plants were supplemented with higher concentrations of Ca and K. Stressed plants exhibited increased chlorophyll concentration, probably due to a reduction in leaf expansion, and reduced catalase and relative water content. Total nitrogen and K was reduced in stressed plants, however, it was restored when supplemented with higher Ca and K in the nutrient solution. Boron and Na content was higher in stressed plants, however, supplementary Ca and K were unable to ameliorate this response. Phosphorus, Ca and Mg concentration was increased when plants were irrigated with solutions high in salinity, alkalinity and B, but were not significantly different from that of control plants.

INTRODUCCIÓN

El tomate es uno de los cultivos hortícolas más importantes en todo el mundo (Flores et al., 2010). La superficie cultivada viene aumentado alrededor de un 25 % durante los últimos 10 años y la producción en invernadero se ha convertido económicamente importante (He et al., 2007; FAO, 2009).

Las plantas se ven afectadas de forma continua por una variedad de factores ambientales tanto bióticos como abióticos, en especial por sequía o el agua de mala calidad así como un alto contenido de sal, alcalinidad o presencia de elementos fuera del límite de tolerancia para la agricultura. El crecimiento rápido de la población o la migración, aumenta problemas de escasez de agua y desertificación y produce nuevas amenazas a los ecosistemas y la estabilidad económica de los países. La salinidad es causada por acumulación excesiva de iones como Na, Ca, Mg, Cl, SO₄²⁻ y HCO₃⁻. Los trastornos se presentan mediante la imposición de una tensión tanto iónica como osmótica (Castillo et al., 2007). La presión osmótica en la solución del suelo excede la presión osmótica en las células vegetales y reduce la capacidad de las plantas para absorber agua y minerales como K y Ca (Glenn et al., 1997; Munns et al., 2006). El NaCl es la sal dominante en la naturaleza. Las células vegetales utilizan una mayor presión osmótica para absorber agua y minerales esenciales en las células de la raíz de la solución del suelo.

La alcalinidad del agua también se considera un parámetro crítico de calidad debido a su efecto directo en el aumento de pH de la solución y sus efectos directos e indirectos sobre el crecimiento de las plantas, la calidad y comerciabilidad. Algunas consecuencias de la alta alcalinidad y el pH resultante son la disminución de la solubilidad de nutrientes, así como la formación de compuestos insolubles de P y micronutrientes, (principalmente Fe y Zn), necesarios para la nutrición de la planta. Las respuestas más evidentes de las plantas a la alta alcalinidad son una clorosis en las hojas más jóvenes y un retraso del crecimiento (Lucena, 2000; Pearce et al., 1999), el Zn, cobre (Cu), molibdeno (Mo) también son menos solubles en pH alto inducido por alcalinidad (Barber, 1995). La concentración perjudicial del HCO_3^- reportado varía entre 4 a 20 mM. Se ha informado la tolerancia de algunos cultivares como girasol a HCO_3^- (Alcántara et al., 1988).

El exceso de B ejerce diferentes efectos tales como: reducción de la división celular en raíz, menor contenido de clorofila en hojas inferiores, menor tasa fotosintética, disminución de los niveles de lignina y suberina, entre otros (Nable et al., 1997; Reid, 2007). Aunque la base fisiológica para la toxicidad de B no está clara, se han propuesto tres causas principales teniendo en cuenta sus características químicas: (1) una alteración de la estructura de la pared celular; (2) la interrupción metabólica mediante la unión a la ribosa a restos de moléculas tales como trifosfato de adenosina (ATP), nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) o la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH); (3) la interrupción de la división celular y el desarrollo mediante la unión a la ribosa, ya sea como el azúcar libre o dentro de ARN (Reid et al., 2004).

El Ca participa en respuestas al estrés por sus características físicas y químicas únicas; es un segundo mensajero involucrado en la transducción de la señales de casi todos los tipos de estrés tanto abióticos como bióticos en plantas. Las plantas cuentan con proteínas sensores de Ca como: proteínas detonador que se activan mediante formación de complejos de Ca para afectar otras proteínas de la vía de señalización, las proteínas de amortiguamiento se une a una elevada concentración de Ca para la disminución del nivel de Ca libre (White y Broadley, 2003).

El K es el segundo nutriente más abundante en la planta después del N. Elemento de especial importancia en el metabolismo, desarrollo y adaptación a estrés para las plantas ya que tiene varias funciones como la compartimentación de nutrientes en células o tejidos. Una de las principales funciones es la activación de enzimas, estabilización de síntesis de proteínas, neutralización de la carga negativa de proteínas y el mantenimiento de la homeostasis citoplasmática del pH (Marschner, 1995). Participa como un cofactor en el citosol activando más de 50 enzimas, las cuales son muy susceptibles a una alta concentración citosólica de Na. Por lo tanto, aparte de una baja concentración citosólica de Na, un mantenimiento citosólico bajo de la relación Na/K es fundamental para el buen funcionamiento de las células (Rubio et al., 1995; Zhu et al., 1998). Esto representa mecanismos de tolerancia al estrés salino. Por todo lo mencionado anteriormente, se planteo la siguiente hipótesis y objetivos para la presente investigación en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la aplicación suplementaria de Ca y K a la tolerancia de multiestrés ocasionada por salinidad, alcalinidad y B en el agua de riego en plantas jóvenes de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de la aplicación suplementaria de Ca y K en plantas sometidas a multiestrés sobre el estado nutrimental del tomate.

HIPÓTESIS

La aplicación de Ca y K suplementario en la solución nutritiva permite elevar la tolerancia a altos niveles de salinidad, alcalinidad y B mediante un aumento en las respuestas ante el estrés por la planta.

REVISIÓN DE LITERATURA

Estrés

El estrés ambiental representa una fuerte restricción para el aumento de la productividad de los cultivos y el aprovechamiento de los recursos naturales. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de la tierra arable se encuentra libre de algún tipo de estrés (Benavides, 2002). El estrés ambiental no solo tiene impacto en los cultivos actuales, también son importantes barreras para introducción de plantas en áreas que actualmente no están siendo utilizadas para la agricultura. El estrés asociado con temperatura, salinidad y sequía en combinación o solo, tiende a aumentar la gravedad de los problemas a los que las plantas serán expuestas en las próximas décadas (Duncan, 2000; Cherry et al., 2000).

El concepto de estrés en plantas se extendió mediante la inclusión de la etapa de regeneración, cuando los factores de estrés se retiran y por la diferenciación entre eu-estrés y dis-estrés. Eu-estrés es una activación, el estímulo del estrés y un elemento positivo para el desarrollo de la planta, mientras que dis-estrés es un estrés grave que afecta negativamente a la planta y causa daños. "Un estrés leve puede activar el metabolismo celular, aumentar la actividad fisiológica de una planta y no causar ningún efecto perjudicial incluso a una

larga duración. Ese estímulo de estrés leve es favorable para la planta (Lichtenthaler, 1996).

Las respuestas metabólicas, anatómicas y morfológicas al estrés son algunos de los procesos primarios de micro evolución por selección natural. Una de las principales fuerzas que da forma a la estructura y función de las plantas es el estrés ambiental. La importancia de las respuestas de adaptación al estrés ambiental se destaca por los numerosos casos de evolución convergente en las plantas. Las similitudes en forma y función entre plantas filogenéticamente no relacionados son a menudo una consecuencia de la coevolución impulsado ambientalmente (Nilsen y Orcutt, 1996).

Tipos de estrés

Muchos de los factores ambientales que fluctúan están asociados íntimamente con los procesos metabólicos. La variación de luz que suministra energía para fotosíntesis tiene efectos inmediatos sobre el metabolismo mientras que el déficit de agua disminuye la conductancia estomática y por lo tanto limita el suministro de dióxido de carbono y cambia el balance entre la fotosíntesis y la fotorrespiración. La fuente (nitrato vs amonio) y concentración de nitrógeno influye en la ubicación (raíz o tallo) y la tasa de asimilación de nitrógeno en aminoácidos y por lo tanto requiere de un equilibrio dinámico entre la fotosíntesis, la repartición de carbono y la asimilación de nitrógeno (Smirnoff, 1995).

Otros factores de estrés son:

Estrés ambiental:

Estrés hídrico.

Bajas temperaturas.

Alta o baja irradiación.

Alta o baja radiación ultravioleta (UV).

Salinidad.

Deficiencia nutrimental.

Metales pesados.

Estrés fisiológico:

Estrés hormonal (ABA, fitocromo, etileno, AG, etc.).

Cambios en estructuras celulares (estomas, cloroplastos, mitocondrias, etc.)

Respuestas estomáticas.

Tasas de asimilación de CO₂.

Tasas de fotorrespiración.

Estrés bioquímico:

Estrés por factores abióticos.

Acumulación de metabolitos nitrogenados.

Síntesis de polioles.

Absorción y compartimentación de iones.

Cambios en la permeabilidad del agua.

Estrés por factores bióticos.

Genes de resistencia.

Resistencia sistémica adquirida (SAR)

Resistencia sistémica inducida (RSI)

Choque oxidativo.

Plantas transgénicas con mayor resistencia al estrés oxidativo.

Bases transgénicas resistentes a oxidación.

Aumento de resistencia fenotípica a estrés oxidativo.

(Basurto et al., 2008).

Alcalinidad

Se define como la capacidad del agua para aceptar iones de H^+ (protones). La alcalinidad es importante en la calidad del agua. El agua altamente alcalina tiene generalmente valores elevados de pH y altos niveles de sólidos disueltos, generalmente las especies básicas responsables de la alcalinidad del agua son el ión HCO_3^- , el ión CO_3^{2-} y el ion hidróxido. Otras especies que contribuyen a la alcalinidad, aunque en menor grado son el amoníaco y las bases conjugadas de los ácidos fosfórico, silícico, bórico y los ácidos orgánicos. A valores de pH inferiores a 7 $[H^+]$ en el agua disminuye significativamente la alcalinidad (Manahan, 2007). La alcalinidad produce una capacidad tampón en una solución acuosa provocando un aumento de pH por la neutralización de H^+ por HCO_3^- y CO_3^{2-} . La forma de carbonato predominante en suelos está determinada por el pH del suelo (Whipker, 1996).

Un alto contenido de humedad o encharcamiento también reduce la difusión del CO_2 (Vapaavuory y Pelkonen, 1985). La lenta difusión del CO_2 puede elevar la alcalinidad entre 1 a 4 mM (Takkar et al., 1987) o hasta 10 mM si el suelo es calcáreo y rico en materia orgánica (McCray y Matocha, 1992). En el suelo la alcalinidad ocasiona problemas físicos y químicos, como problemas químicos

se encuentran la reducción de la disponibilidad de P, K y la mayoría de micronutrientes como el Fe que es el más frecuente en suelos de este tipo.

El anión OH⁻ contribuye en la alcalinidad del agua únicamente si el pH es superior a 11. Con pH normal los HCO₃⁻ y CO₃²⁻ suelen ser los agentes causantes de la alcalinidad y en conjunto con H₂CO₃ y CO₂ se conoce como el sistema de carbonato (Lindsay, 1979). El sistema de carbonato es un tampón ya que puede donar y aceptar H⁺, ayudando a resistir los cambios bruscos en el pH. La alta alcalinidad en el agua puede ser perjudicial, sin embargo cero alcalinidad no es muy recomendable debido a su capacidad tampón que evita cambios de pH repentinos en la solución de medio de cultivo.

Efectos de alcalinidad en plantas

Algunas plantas poseen un estrecho margen de tolerancia a la alcalinidad que influye en la disponibilidad de nutrientes inorgánicos importantes para el crecimiento, alta alcalinidad ocasiona disminución de la solubilidad de nutrientes como la precipitación del P y micronutrientes principalmente Fe, Zn, Mn y Cu dificultando la nutrición de las plantas (Raven et al., 1992). La respuesta más evidente es clorosis en las hojas jóvenes y retraso de crecimiento (Lucena, 2000; Pearce et al., 1999), una disminución en la concentración de nutrientes puede ser causada por el efecto inhibitor de HCO₃⁻ en los procesos metabólicos (Bialczyk y Lechowsky, 1992; Bialczyk et al., 1994;) y un aumento en flujo de salida neto de nutrientes (Alhendawi et al., 1997).

El rango de concentración perjudicial del HCO₃⁻ reportado varía entre 4 a 20 mM. El cultivo de girasol es reportado como tolerante a HCO₃⁻ (Alcántara et al.,

1988). Disminución del crecimiento se atribuye a una baja tasa fotosintética en hojas cloróticas inducidas por HCO_3^- . A menor tasa fotosintética provoca menor síntesis de la clorofila debido a la baja translocación de Fe (Bavaresco et al., 1999) o a la menor solubilidad de Fe en el suelo o solución del medio de crecimiento. La inhibición del crecimiento de la raíz es uno de los efectos más tempranos detectados visualmente ocasionado por HCO_3^- como se observa en la remolacha azucarera (Campbell y Nishio, 2000).

Salinidad

Es causada por acumulación excesiva de iones como Na, Ca, Mg, Cl, SO_4^{2-} y HCO_3^- . (Grattan y Grieve, 1999). Afecta el crecimiento de las plantas por imposición de estrés osmótico y iónico (Castillo et al., 2007). Altas concentraciones de NaCl modifican el equilibrio osmótico y el resultado es una "sequía fisiológica", por lo tanto, la disminución de la absorción de agua de la planta y la apertura de los estomas provocando la inhibición de la transpiración (Munns y Tester, 2008).

La salinidad reduce crecimiento del cultivo y el rendimiento de diferentes maneras. Bajo estrés por salinidad la presión osmótica en la solución del suelo excede la presión osmótica en las células vegetales debido a la presencia de alta concentración de sal por lo tanto, reduce la capacidad de las plantas para absorber agua y minerales como el K y Ca (Glenn et al., 1997; Munns et al., 2006). Por otra parte los iones Na y Cl pueden entrar en las células y tienen efectos tóxicos directos sobre las membranas celulares así como en las actividades metabólicas en el citosol (Greenway y Munns, 1980; Hasegawa et

al., 2000; Zhu, 2000). Estos efectos primarios del estrés por salinidad causan efectos secundarios como reducción de la expansión celular, asimilar la producción y la función de la membrana así como una disminución del metabolismo citosólico y la producción de especies reactivos del oxígeno (Ross). El ion Na es muy perjudicial para la mayoría de las células vegetales cuando está presente en el citosol en concentraciones superiores a 10 mM. (Tester y Davenport, 2003).

Salinidad en plantas

Los mecanismos contra salinidad incluyen la absorción reducida y secuestro en el citosol de los iones tóxicos (Na y Cl) ya sea en el apoplasto o en la vacuola. (Tester y Davenport., 2003; Fukuda et al., 1998). La concentración citosólica de Na también puede ser compartimentado en algunos otros orgánulos subcelulares como el retículo endoplasmático y aparato de Golgi (Jou et al., 2006).

Para contrarrestar el estrés osmótico impuesta por alta salinidad las plantas necesitan sintetizar solutos orgánicos compatibles como prolina, glicina betaína, la trehalosa, sorbitol, manitol, sacarosa y pinitol en el citosol (Taiz y Zeiger, 2006; Zhang et al., 2004; Bohnert y Jensen, 1996; Liang et al., 2009).

Toxicidad por boro

Altas concentraciones de B pueden ocurrir de forma natural en el suelo o en el agua subterránea o ser añadido al suelo de la minería, fertilizantes, agua de riego (Nable et al., 1997). En la evaluación de la toxicidad potencial del agua de

riego cargados de B deben tenerse en cuenta las características físicas y químicas del suelo (Goldberg, 1993), la capacidad de adsorción de un suelo debido a que es crucial para determinar la cantidad de B en la solución. Un suelo con alta adsorción es más probable que mantenga la solución del suelo con menor cantidad de B que un suelo con baja capacidad de adsorción, aun y cuando ambos suelos se riegan con la misma agua que contiene B (Nable et al., 1997). Los sitios de adsorción del suelo actúan como una piscina para el B y amortigua su exceso en la solución del suelo (Keren y Bingham, 1985). Agua con altos niveles de B se puede utilizar para el riego de cultivos sensibles en suelos que muestran alta afinidad de adsorción debido a que grandes cantidades de B en el agua de riego serán adsorbidos por el suelo. Keren y Bingham (1985) sugieren concentraciones seguras de B en el agua de riego de 0.3 mg B/L-1 para plantas sensibles como aguacate (*Persea americana*), manzana (*Malus domestica*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*), 1- 2 mg B/L-1 para plantas semi tolerantes; avena (*Avena sativa*), maíz (*Zea mays*), papa (*Solanum tuberosum*) y 2-4 mg B/L-1 para plantas tolerantes como zanahoria (*Daucus carota*), alfalfa (*Medicago sativum*) y la remolacha azucarera (*Beta vulgaris*).

El B se mueve pasivamente de las raíces con la transpiración acumulándose primero en hojas maduras (Brown et al., 1999). Aunque la base fisiológica para la toxicidad de B no está claro, tres causas principales han sido la hipótesis teniendo en cuenta la química del B: (1) una alteración de la estructura de la pared celular; (2) la interrupción metabólica mediante la unión a la ribosa a restos de moléculas tales como trifosfato de adenosina (ATP), nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) o la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

(NADPH); (3) la interrupción de la división celular y el desarrollo mediante la unión a la ribosa ya sea como el azúcar libre o dentro de ARN (Reid et al., 2004). La compartimentación subcelular de B sigue siendo un tema de controversia pero es inequívocamente claro que B está presente en todos los compartimentos subcelulares (apoplasto, pared celular, citosol y la vacuola) (Dannel et al., 2002)

Tolerancia a la toxicidad por boro

Desde hace mucho tiempo se ha sabido que la tolerancia B está relacionado con la capacidad de restringir la acumulación de B en raíces y brotes (Reid, 2007). De acuerdo a esto para evitar problemas con la toxicidad de B la actividad del transportador de ácido bórico debe estar estrechamente regulada para mantener la tasa de transporte radial de B en un intervalo aceptable independientemente de la concentración de B del suelo (Takano et al., 2008).

La salinidad puede reducir o aumentar los efectos tóxicos del B, la reducción puede ocurrir por la disminución de la evapotranspiración inducida por salinidad o cambios en el pH del suelo que afectan la especiación del B $B(OH)_3$ vs $B(OH)_4$ y los procesos de adsorción del suelo que afecta el B absorbido por las plantas (Goldberg et al., 2000). Un adecuado suministro de Ca mantiene la integridad y selectividad de la membrana celular mejorando los efectos negativos de una alta salinidad y la formación de complejos apoplásticos de B-Ca podrían inducir tolerancia a concentraciones tóxicas de B (Bastías et al., 2010). Se ha informado que la salinidad podría interactuar con la toxicidad de B a través de un efecto combinado sobre el B y la absorción de agua (Wimmer et

al., 2003). Se ha sugerido que en plantas tratadas con B y NaCl ocurre control de la homeostasis que regula la absorción de agua de la raíz y el intercambio de los estomas y que depende de la funcionalidad de las acuaporinas (Bastías et al., 2004; Martínez-Ballesta et al., 2008).

Calcio en las plantas

Desempeña importante papel estructural en la producción de tejidos y permite crecer mejor (Marschner, 1995; White y Broadley, 2003). El calcio aumenta la resistencia de los tejidos vegetales en distintas condiciones de estrés incluyendo estreses bióticos y abióticos (Sanders et al., 1999). Además de estos roles fundamentales el Ca ha sido reconocida como una molécula mensajera secundaria importante bajo diferentes tensiones incluyendo estrés por salinidad. En las células vegetales la concentración citosólica normal de Ca se mantiene en niveles de 10 a 200 nM, mientras que la concentración de Ca en la pared celular, vacuola, retículo endoplasmático y mitocondrias es 1 a 10 mM (Reddy, 2001; Rudd y Franklin, 2001; Reddy y Reddy, 2004).

La concentración citosólica de Ca puede ser elevada por un factor de 10 o 20 rápidamente (en segundos) tras la detección de estrés mediante el uso de grandes potenciales electroquímicos ya sea en el plasma o las membranas de orgánulos (Sanders et al., 1999).

La aplicación de Ca complementario se ha mostrado que mejora de manera significativa los efectos negativos de la salinidad sobre el crecimiento de la planta y el rendimiento de fruta (Navarro et al., 2000; Silva et al., 2007). El Ca aumenta la selectividad y transporte de K en la relación K/Na durante el estrés por NaCl aumentando la selectividad en los sistemas de transporte de la raíz.

Potasio en las plantas

El ion K es el catión monovalente esencial más abundante en las células, necesita ser mantenido en rangos entre 100 a 200 mM en el citosol para el funcionamiento metabólico eficiente (Tester y Davenport, 2003). Como un cofactor en el citosol, el K activa más de 50 enzimas que son muy susceptibles a la alta concentración citosólica de Na. Aparte de baja concentración citosólica de Na, el mantenimiento citosólico bajo de la relación Na/K también es fundamental para la función de las células (Rubio et al., 1995; Zhu et al., 1998), esto representa mecanismos de tolerancia al estrés salino.

El K es el segundo nutriente más abundante después del N y puede llegar a representar un 4 % a 8 % en peso seco de las plantas, es un elemento de especial importancia en el metabolismo, desarrollo y adaptación a estrés para las plantas ya que tiene varias funciones como la compartimentación de nutrientes en células o tejidos. Una de las principales funciones es la activación de enzimas, estabilización de síntesis de proteínas, neutralización de la carga negativa de proteínas y el mantenimiento de la homeostasis citoplasmática del pH (Marschner, 1995).

Las dos grandes reservas de K en las células vegetales están en la vacuola y en el citosol. Las concentraciones citosólicas de K se mantienen a un nivel constante de 100 mM y no difieren entre las células de la raíz y de la hoja, el contenido vacuolar de K puede variar dramáticamente entre diferentes tipos de células que van de 120 mM en las vacuolas celulares de raíz (Walker et al., 1996) a 230 mM en mesófilo de vacuolas celulares. El K es esencial actuando como un cofactor en varias enzimas clave de diferentes vías metabólicas

(Marschner, 1995; White y Karley, 2010). El K puede no ser metabolizado y siempre permanece en su forma elemental o iónico en las células vegetales para ejecutar sus funciones fisiológicas (Clarkson y Hanson, 1980). Por lo tanto, la eficiencia de utilización de K principalmente depende de su absorción desde el entorno y/o translocación en las plantas. Es bien sabido que la absorción y translocación están mediados principalmente por transportadores o canales de K.

**ARTICULO
CIENTÍFICO**

**SUPPLEMENTARY CALCIUM AND POTASSIUM IMPROVE THE
RESPONSE OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) YOUNG
PLANTS TO SIMULTANEOUS ALKALINITY, SALINITY AND BORON
STRESS**

**Roberto Capula-Rodríguez, Luis A. Valdez-Aguilar, Valentín
Robledo-Torres, Rosalinda Mendoza-Villarreal, Adalberto
Benavides-Mendoza, Marcelino Cabrera-de la Fuente**

Posgrado en Horticultura y Agricultura Protegida, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coah., México 25315.

Received;

accepted;

Address correspondence to Luis A. Valdez-Aguilar: Posgrado en Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coah., México. E-mail: luisalonso.valdez@uaaan.mx

Cultivated plants are affected by several stressing factors existent in irrigation water that are more deleterious when interact simultaneously. The objective of the present study was to determine whether supplementary Ca and K ameliorate the response of tomato young plants to a combination of stressful conditions in irrigation water of poor quality:

alkalinity, salinity and excess B. Plants irrigated with poor quality water showed reduced shoot, root and total dry weight, nonetheless, biomass accumulation was partially restored when receiving a supplementary concentration of Ca and K. Total content of N and K, and catalase activity, were reduced in stressed plants, however, N and K content were partially restored in stressed plants when supplemented with higher Ca and K. Stressed plants supplemented with higher Ca and K showed a slight increase in the total content of P, Ca and Mg compared to that of control plants.

Key Words: multistress, nutrient solutions, nutrient status, soilless-culture, water quality

INTRODUCTION

Cultivated plants are continuously affected by biotic and/or abiotic environmental factors that hamper agricultural production. Among other parameters, irrigation water of poor quality may contain a high concentration of salts, alkalinity-inducing compounds and/or several ions that surpass the limits of tolerance by plant species. Worldwide, over 800 million ha are affected by salinity (Munns, 2005) due to a high concentration of calcium (Ca), magnesium (Mg), sulphate (SO_4^{2-}) and bicarbonate (HCO_3^-), though sodium (Na) and chloride (Cl) are the most predominant ions. Root cells usually have an osmotic pressure higher than that of the soil solution, allowing uptake of water and nutrients;

however, under salinity stress the osmotic pressure of soil solution exceeds that of root cells, reducing the ability of plants for water and nutrient acquisition (Glenn et al., 1997; Munns et al., 2006). In addition, by excessive concentration of a specific ion, salinity has direct effects on metabolic activities in the cytosol and/or plasmalemma (Greenway and Munns, 1980; Hasegawa et al., 2000; Zhu, 2000).

Alkalinity is caused mainly by a high concentration of carbonates (CO_3^{2-}) and HCO_3^- , and it is considered a critical water quality parameter due to its effect on solution pH and on growth, quality and marketability of plants (Cartmill et al., 2007). Alkalinity renders insoluble forms of nutrients such as phosphorus (P), iron (Fe), zinc (Zn) (FAO, 2000) and other micronutrients. Plant responses to high alkalinity, higher than 4.0 to 7.56 mM HCO_3^- in ornamental species (Valdez-Aguilar and Reed, 2007), include chlorosis in young leaves and growth delay (Lucena, 2000; Pearce et al., 1999).

Irrigation water is also the main contributor of boron (B) excess in soil (Keles et al., 2004). A high B concentration has been associated with reduced cell division in roots, lower chlorophyll concentration in mature leaves, decreased photosynthetic rate, and reduced lignin and suberin production (Nable et al., 1997; Reid, 2007). Excess B also causes disruption of cell wall development, binding of B with ATP, NADH and NADH₂, and cell division and development by binding with ribose as a free sugar or in ribonucleic acid (Reid et al., 2004; Stangoulis and Reid, 2002),

Calcium is a secondary messenger involved in signal transduction pathways that triggers adaptive plant responses for a wide variety of environmental stimuli and stress tolerance, including: salinity, drought, fungal elicitors, cold, heat, and oxidative stress (Sanders et al., 1999). Similarly, K contributes in the tolerance of plants to salinity stress by competing with Na and by maintaining the water status in plants (Munns and Tester, 2008). Calcium and K play a role in the tolerance to salinity (Cramer and Läuchli, 1996; Silva et al., 2007), alkalinity (Pestana, 2005; Gómez-Pérez et al., 2014) and excess B in irrigation water (Siddiqui et al., 2012). Research on the tolerance brought about by Ca and K has been performed manipulating experimental conditions to impose usually one stress-causing factor at a time; however, in actual circumstances, plants are frequently exposed to several stressing factors occurring simultaneously. The objective of the present study was to determine if supplementary Ca and K ameliorate the response of tomato young plants to a combination of stressful conditions: alkalinity, salinity and excess B, imposed through irrigation water.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in a greenhouse located at Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in Northern México (lat. 25° 27' N, long. 101° 02' W, 1610 m above sea level). Average maximum/minimum temperature was 34°C/15°C, and maximum and minimum relative humidity for experiment duration averaged 87 % and 39 %, respectively.

Average photosynthetically active radiation (PAR) measured at solar noon was $311 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) El Cid plants were transplanted (12 Jul. 2013) into 40 L rigid plastic containers (3 plants per container) with a drainage hole for retrieval of the nutrient solution. Each container was considered an experimental unit and contained 35 L of horticultural grade perlite [33 % water holding capacity (v/v), 64 % air filled pore space, 0.25 g cm^{-3} apparent density].

Experimental units were fertigated with four different nutrient solutions (Table 1); control nutrient solution was prepared according to Steiner's formulation (Ca and K at 7 and 9 meq L^{-1} , respectively) or with supplementary Ca and K (9 and 12 meq L^{-1} , respectively). Treatment nutrient solutions contained both Ca and K concentrations plus NaHCO_3 -induced alkalinity (5 meq L^{-1}), NaCl -induced salinity (60 meq L^{-1}) and excess boron (5 mg L^{-1}). The nutrient solutions also contained macronutrients (meq L^{-1}): 12 NO_3^- , 1 H_2PO_4^- , 4 Mg, 7 SO_4^{2-} , and micronutrients (mg L^{-1}): 3 Fe, 0.4 Zn, 2.6 Mn, 0.5 Cu, and 0.2 Mo. Fertigation was applied through a drip irrigation system with eight emitters per experimental unit, and leachate was collected for reuse. Plants were irrigated hourly for 3 min ($\sim 1.0 \text{ L}$) from 8:00 AM to 6:00 PM. Evapotranspired water was replenished daily to each stock tank and the nutrient solutions were replaced every 10 days.

Table 1 Stress conditions and calcium (Ca) and potassium (K) concentrations imposed for 30 days to tomato plants.

Treatment		Stress	Ca meq L ⁻¹	K meq L ⁻¹	EC dS m ⁻¹	pH
Control (C)	C	-	7	9	2.11	6.7
Control plus supplementary Ca and K	C+ (Ca+K)	-	9	12	2.50	6.5
Stress by alkalinity, salinity and excess boron	ASB	60 meq L ⁻¹ NaCl 5 meqL ⁻¹ NaHCO ₃ 5 ppm B	7	9	7.52	7.2
Stress by alkalinity, salinity and excess boron plus supplementary Ca and K	ASB + (Ca+K)	60 meq L ⁻¹ NaCl 5 meqL ⁻¹ NaHCO ₃ 5 ppm B	9	12	7.59	7.5

At experiment termination, 30 days after transplanting, all the plants from each experimental unit were separated into roots, stems and leaves, washed twice with distilled water, and placed in an oven at 60°C for 72 hours. Dry mass was recorded for each plant part. Relative water content

(RWC) in young and mature leaves, and photosynthetic pigments (chlorophyll a and b) concentration and catalase and peroxidase activities in young leaves of three plants per replication were measured as described by González and González-Villar (2001), Jeffrey and Humphrey (1975), Masia (1998) and Kar and Mishra (1976), respectively. Dry shoot tissues were ground to pass a 40 mesh sieve (A-10, Tekmar, IKA Labortechnik, Germany) and digested in a 2:1 mixture of H₂SO₄:HClO₄ and 2 mL of 30 % H₂O₂. The digested samples were analyzed for nitrogen (N) with Micro-Kjeldahl procedure, while P, K, Ca, magnesium (Mg), Na and B were analyzed with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer (ICP-AES, model Liberty, VARIAN, Santa Clara, CA).

Six replicates of each experimental unit (container with 3 plants) were distributed in a complete randomized block design. Data were analyzed using ANOVA (SAS v. 8.0, SAS Institute) and multiple mean comparison test according to Duncan's procedure.

RESULTS

Compared to the control, plants irrigated with solutions with high alkalinity, salinity and B showed a reduction of 53 %, 32 %, and 51 % in shoot, root and total dry weight (Table 2). Nonetheless, biomass accumulation was partially restored when stressed plants received a supplementary concentration of Ca and K in the nutrient solution, as

shoot, root and total biomass loss was only 28 %, 9 % and 25 %, respectively (Table 2)

Table 2 Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on growth parameters of tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).

Treatment	Shootdryweight	Rootdryweight	Total dryweighth
	g	G	g
Control (C)	10.9a	1.41 ^a	12.3a
C + (Ca+K)	9.1ab	1.66ab	10.7ab
Stress (ASB)	5.1c	0.96b	6.0c
ASB + (Ca+K)	7.9b	1.29ab	9.2b
Anova	<0.001	<0.050	<0.002

Chlorophyll a was increased in stressed plants, probably due a concentration effect associated with reduced leaf expansion, whereas catalase activity and RWC of mature leaves were significantly decreased under stress conditions (Table 3). Supplementary Ca and K did not modify these responses. Chlorophyll b, peroxidase activity and RWC of young leaves were unaffected in plants irrigated with poor quality water.

Table 3 Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on chlorophyll (Chlo) concentration, antioxidant compounds and water status in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).

Treatme nt	Chlo a mg g ⁻¹	Chl o b mg g ⁻¹	Catalaseactivi ty μM min ⁻¹ g ⁻¹	Peroxidas e activity Units min ⁻¹ g ⁻¹	Relativewatercontent	
					Matureleave s %	Young leaves %
Control (C)	1.05b	0.5 7	5438a	18.0	71.2a	52.4
C + (Ca+K)	1.13ab	0.6 1	5000a	10.4	71.7a	54.2
Stress (ASB)	1.40ab	0.9 0	2750b	17.4	63.0b	54.5
ASB + (Ca+K)	1.53a	0.7 5	2188b	20.8	66.0b	56.0
Anova	P=0.050	ns	P<0.001	ns	P=0.009	ns

Nitrogen and K shoot concentration were unaffected by irrigation with poor quality water (Table 4), however, total content of those nutrients were significantly reduced in stressed plants (Table 5). Stressed plants

exhibited partially restored total content of N and K when supplemented with a higher concentration of Ca and K in the nutrient solution (Table 5).

Table 4 Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on nutrient, sodium and chloride concentration in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).

Treatm ent	N	P	K	Ca	Mg	B	Na	Cl
	mmol kg^{-1}					mg kg^{-1}		
Contro l (C)	2664	156b	44	542b	336b	58.3b	928c	43
C + (Ca+K)	2321	284a	50	931a	591a	106.9a	1667c	27
Stress (ASB)	2643	169b	54	763ab	476ab	132.5a	8974b	43
ASB + (Ca+K)	2500	195ab	41	653ab	408ab	131.4a	11450a	40
Anova	ns	P<0.05	ns	P<0.05	P<0.05	P<0.006	P<0.00	ns

Plants irrigated with solutions of high alkalinity, salinity and B showed increased shoot concentration of B and Na (Table 4), however, supplementary concentration of Ca and K did not reduced the concentration of those elements. Nonetheless, in terms of total element content, B and Na exhibited contrasting response as the former was not increased under stressful conditions whereas Na was significantly increased (Table 5).

Table 5 Effect of supplementary calcium and potassium (Ca + K) on nutrient, sodium and chloride content (mmol plant⁻¹) in tomato 30-day old plants irrigated with nutrient solutions containing no stress (Control, C) or simultaneous stress caused by alkalinity, salinity and excess boron (ASB).

Treatment	N	P	K	Ca	Mg	B	Na	Cl
Control (C)	31.7a	2.41ab	5.13a	8.27ab	5.14ab	0.08	0.57b	0.1
								1
C + (Ca+K)	22.7ab	3.13a	5.21a	10.06a	6.66a	0.11	0.86b	0.0
								6
Stress (ASB)	12.9c	0.96c	2.42b	4.06b	2.56b	0.07	2.32b	0.0
								5
ASB + (Ca+K)	21.9b	1.84bc	3.86ab	6.40ab	3.96ab	0.11	4.79a	0.1
								0
Anova	P<0.001	P<0.03	P<0.007	P=0.05	P=0.05	ns	P<0.001	ns

In stressed plants there was a decrease in total content of P, Ca and Mg, however, when plants were supplemented with higher concentration of Ca and K in the nutrient solution, stressed plants exhibited a slight decrease in the total content of those nutrients that resulted not significantly different compared to the content detected in control plants (Table 5). Chloride shoot concentration (Table 4) and total content (Table 5) was not significantly affected.

DISCUSSION

Tomato has been reported to be sensitive to high NaHCO₃-induced alkalinity (Mohsenian and Roosta, 2014; Mohesenian et al., 2012), NaCl-induced salinity (Giuffrida et al., 2014) and excess B (Uluisik et al., 2011). Plant responses observed in the present experiment are in line with the previous reports as tomato plants exhibited significant reductions in growth when irrigated with solutions with the combined stress caused by high alkalinity, salinity and B. Studies imposing individual stress conditions to tomato plants have reported that B at 4 mg L⁻¹ caused a 38 % reduction in shoot and root dry weight (Kaya et al., 2009), with NaCl at 60 meq L⁻¹ the reduction was, on average, 45 % and 28 %, respectively (Uluisik et al., 2001) and with 5 meq L⁻¹ NaHCO₃ the reduction was of 29 % and 38 % in leaf and root dry weight (Mohsenian et al., 2012). Nonetheless, in the present study, stressed tomato plants exhibited

improved growth when supplemented with higher levels of Ca and K, suggesting that those nutrients impart tolerance not only to an individual stress factor but also to a combination of multiple stressing factors acting simultaneously.

The activities of catalase, peroxidase and/or the antioxidant system have been reported to be enhanced by plants in response to high salinity (Rasool et al., 2013) and alkalinity (Gómez-Pérez et al., 2014), thus the decreased catalase activity observed in the present experiment can be probably ascribed to the toxic effects from the increased shoot B concentration that resulted when plants were irrigated with excess B in the nutrient solution. Similar results have been reported in cowpea plants as, compared to B-sufficient plants, B at 50 mg L⁻¹ was associated with a reduction in the activities of peroxidase, polyphenol oxidase and other non-enzymatic antioxidants (Michael and Krishnaswamy, 2012). In the present experiment we detected that peroxidase activity was unaffected by the combined stress imposed, suggesting that the components of the antioxidant system are differentially affected by stress; similar differential effects have been reported for super oxide dismutase as, in contrast to other components of the antioxidant system, its activity was enhanced due to B toxicity (Michael and Krishnaswamy, 2012; Keles et al., 2004). In the present study, supplementary Ca and K did not increase the activity of catalase or peroxidase, which is in contrast to reports that demonstrate the enhancing effect of Ca, as in lisianthus under high alkalinity (Gómez-Pérez et al., 2014) and chickpea under high salinity (Rasool et al., 2013).

Growth reduction under saline conditions has been attributed to decreased water uptake, specific Na and Cl ion toxicity, and impairment in translocation or uptake of Ca and K (Munns and Tester, 2008). In addition to reduced growth, high alkalinity has been reported to induce leaf chlorosis due to the basic pH that results from high concentrations of HCO_3^- and carbonates, rendering insoluble forms of Fe and other micronutrients (Mohsenian et al., 2012). In the present study, leaves of stressed tomato young plants exhibited no chlorosis as chlorophyll concentration was not reduced, probably due to the use of micronutrients in chelated form; as Mg content was markedly decreased under stress conditions, the observed increase in chlorophyll a in leaves may be the result of a concentration effect due to the reduced leaf growth or expansion, as reported for tomato under high alkalinity (Mohsenian et al., 2012) and salinity (Cuartero and Fernández-Muñoz, 1999; Maggio et al., 2007).

Bastías et al. (2010) reported that independent applications of excess B or supplementary Ca resulted in restored Mg concentration in roots of NaCl-stressed tomato plants; nonetheless, when excess B and supplementary Ca were mixed, the interaction resulted in non-restored Mg concentration. In the present study, Ca and K resulted in increased chlorophyll a concentration in stressed plants, which was associated to the enhanced content of Mg. The contrast between our results and those reported by Bastías et al. (2010) may have been due to the different concentrations utilized ($150 \text{ meq L}^{-1} \text{ NaCl}$ and $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ B}$), or to an

enhanced uptake of Mg when alkalinity is high, as reported by Marschner (1995).

Excess B (3.3 and 33 mg L⁻¹) has been reported to increase RWC in leaves of Brassica seedlings, however, an increase in proline synthesis and other water status parameters suggest that excess B caused water stress (Pandey, 2013). Our results are in contrast with the previous report; however, water stress was confirmed by the reduction in RWC, which may also be a response to the high salinity imposed (Cuartero and Fernández-Muñoz, 1999).

In the present study, stressed plants exhibited enhanced Na and B shoot concentration, whereas plants supplemented with higher Ca and K concentration in the nutrient solution showed higher concentration of Ca and unaffected K. Shoot N and P concentration and/or content were restored in stressed plants that received supplementary Ca and K, suggesting that nutrient uptake was restored, probably due to the maintenance of membrane integrity and selectivity under stressful conditions such as salinity, as it has been attributed to the supplementary Ca or levels of B assessed in the present study (Bastías et al., 2010; Silva et al., 2007). The higher P concentrations observed in stressed plants supplemented with Ca and K may have also played a role in the tolerance to excess B, as reported in tomato (Kaya et al., 2009).

In summary, the reduced growth experimented by stressed tomato plants was associated with: 1) a partial impairment in the antioxidant system as suggested by the reduction in catalase activity, 2) an impairment in water

relations as suggested by the reduced RWC, 3) affected nutrient acquisition as demonstrated by the decrease in N, P, K, Ca and Mg content, 4) specific toxicity due to the increase in shoot Na, concentration and total content, and B concentration. However, plants stressed simultaneously with high alkalinity, high salinity and excess B exhibited improved growth when supplemented with higher concentrations of Ca and K, which was associated with: 1) enhanced P concentration, 2) maintenance of chlorophyll a concentration, and 3) partially restored N, P, K, Ca, and Mg uptake.

REFERENCES

- Bastías, E., C. Alcaraz-Lopez, I. Bonilla, M. C. Martínez-Ballesta, L. Bolaños, and M. Carvajal. 2010. Interactions between salinity and boron toxicity in tomato plants involve apoplastic calcium. *Journal of Plant Physiology* 167: 54–60.
- Cartmill, A. D., A. Alarcón, and L. A. Valdez-Aguilar. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of *Rosa multiflora* cv. Burr to bicarbonate in irrigation water. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1517–1540.
- Cramer, G. R., and A. Läuchli. 1996. Ion activities in solution in relation to Na⁺-Ca²⁺ interactions at the plasmalemma. *Journal of Experimental Botany* 37: 241–50.
- Cuartero, F., and R. Fernández-Muñoz. 1999. Tomato and salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 83–125.

- FAO. 2000. Manual on integrated soil management and conservation practices. FAO Land and Water Bulletin No. 8. Rome, Italy: FAO.
- Giuffrida, F., G. Graziani, V. Fogliano, D. Scuderi, D. Romano, and C. Leonardi. 2014. Effects of nutrient and NaCl salinity on growth, yield, quality and composition of pepper grown in soilless closed system. *Journal of Plant Nutrition* 37: 1455–1474.
- Glenn, E., M. Miyamoto, D. Moore, J. J. Brown, T. L. Thompson, and P. Brown. 1997. Water requirements for cultivating *Salicornia bigelovii* Torr. with seawater on sand in a coastal desert environment. *Journal of Arid Environments* 36: 711–730.
- Gómez-Pérez, L., L. A. Valdez-Aguilar, A. Sandoval-Rangel, A. Benavides-Mendoza, R. Mendoza-Villarreal, and A. M. Castillo-González. 2014. Calcium ameliorates the tolerance of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] to alkalinity in irrigation water. *Hort Science* 49: 807–811.
- González, L., and M. González-Villar. 2001. Determination of relative water content. In *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, ed M.J. Reigosa Roger, 207–212. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Greenway, H., and R. Munns. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31: 149–190.
- Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu, and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463–499.

- Jeffrey, S. W., and G. F. Humphrey. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 167: 191–194.
- Kar, M., and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase and polifenoloxidase activities during rice leaf. *Plant Physiology* 57: 315–319.
- Kaya, C., M. Ashraf, O. Sonmez, S. Aydemir, A. L. Tuna, and M. A. Cullu. 2009. The influence of arbuscular mycorrhizal colonisation on key growth parameters and fruit yield of pepper plants grown at high salinity. *Scientia Horticulturae* 121: 1–6.
- Keles, Y., I. Öncel, and N. Yenice. 2004. Relationship between boron content and antioxidant compounds in citrus leaves taken from fields with different water source. *Plant and Soil* 264: 345–353.
- Lucena, J. L. 2000. Effects of bicarbonate, nitrate and other environmental factors on iron deficiency chlorosis. *Journal of Plant Nutrition* 23: 1591–1606.
- Maggio, A., G. Raimondi, A. Martino, and S. De Pascale. 2007. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. *Environmental and Experimental Botany* 59: 276–282.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. San Diego, California: Academic Press.
- Masia, A. 1998. Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and special reference to ethylene. *Plant Physiology* 104: 668–672.

- Michael, P. I., and M. Krishnaswamy. 2012. Oxidative stress and antioxidants in cowpea plants subjected to boron and high irradiance stresses. *Journal of Plant Nutrition* 35: 2180–2197.
- Mohsenian, Y., and H. R. Roosta. 2014. Effects of grafting on alkali stress in tomato plants: datura rootstock improve alkalinity tolerance of tomato Plants. *Journal of Plant Nutrition* just accepted 00–00–00.
- Mohsenian, Y., H. R. Roosta, H. R. Karimi, and M. Esmailizade. 2012. Investigation of the ameliorating effects of eggplant, datura, orange nightshade, local Iranian tobacco, and field tomato as rootstocks on alkali stress in tomato plants. *Photosynthetica* 50: 411–421.
- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167: 645–663.
- Munns, R., R. A. James, and A. Läuchli. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57: 1025–43.
- Munns, R., and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–681.
- Nable, R. O., G. S. Bañuelos, and J. G. Paull. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil* 198: 181–198.
- Pandey, N. A. 2013. Antioxidant responses and water status in brassica seedlings subjected to boron stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 35: 697–706.

- Pearce, R. C., Y. Li and L. P. Bush. 1999. Calcium and bicarbonate effects on the growth and nutrient uptake of burley tobacco seedlings: hydroponic culture. *Journal of Plant Nutrition* 22: 1069–1078.
- Pestana, M., A. D. Varennes, J. Abadía, and E. A. Faria. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae* 104: 25–36.
- Rasool, S., A. Ahmad, T. O. Siddiqi, and P. Ahmad. 2013. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35: 1039–1050.
- Reid, R. 2007. Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley. *Plant and Cell Physiology* 48: 1673–1678.
- Reid, R. J., J. E. Hayes, A. Post, J. C. R. Stangoulis, and R. D. Graham. 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell and Environment* 27: 1405–1414.
- Sanders, D., C. Brownlee, and J. F. Harper. 1999. Communicating with calcium. *The Plant Cell* 11: 691–706.
- Siddiqui, M. H., F. Mohammad, M. M. Khan and M. H. Al-Whaibi. 2012. Cumulative effect of nitrogen and sulphur on *Brassica juncea* L. genotypes under NaCl stress. *Protoplasma* 249: 139–153.
- Silva, C., F. J. Aranda, A. Ortiz, M. Carvajal, V. Martínez, and J. A. Teruel. 2007. Root plasma membrane lipid changes in relation to water transport in

pepper: a response to NaCl and CaCl₂ treatment. *Journal of Plant Biology* 50: 650–657.

Stangoulis, J. C. R., and R. J. Reid. 2002. Boron toxicity in plants and animals. In: *Boron in Plant and Animal Nutrition*, eds. H. E. Goldbach, B. Rerkasem, M. A. Wimmer, P. H. Brown. M. Thellier, and R. Bell, 227–240. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. p. 227–240.

Ulusik, I., Kaya, A., , D. E. Fomenko, H. C. Karakaya, B. A. Carlson, V. N. Glandyshev, and A. Koc. 2011. Boron stress activates the general amino acid control mechanism and inhibits protein synthesis. *Plos one* DOI: 10.1371/journal.pone.0027772.

Valdez-Aguilar. L. A., and D. Wm. Reed. 2007. Response of selected greenhouse ornamental plants to alkalinity in irrigation water. *Journal of Plant Nutrition* 30: 441–452.

Zhu, J. K. 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 124: 941–948.

CONCLUSIONES GENERALES

Las plantas mostraron mejor crecimiento cuando se aplica Ca y K complementario en la solución nutritiva.

La disminución de la actividad de la catalasa se puede atribuir a efectos tóxicos por alta concentración de B. La actividad de la peroxidasa fue afectado por el estrés combinado impuesto sugiriendo que los componentes del sistema antioxidante son afectados de manera diferente.

El contenido de N y P fue mayor restaurándose en plantas estresadas que recibieron Ca y K suplementario probablemente debido al mantenimiento de la integridad y selectividad de la membrana.

LITERATURA CITADA

- Alcántara, E., Romera, F.J., De la Guardia, M.D. 1988. Genotypic differences in bicarbonate-induced iron chlorosis in sunflower. *Journal of Plant Nutrition*. 11:65-67.
- Alhendawi, R.A., Römheld, V., Kirkby, E.A. Marschner, H. 1997. Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum and maize. *Journal of Plant Nutrition*. 20:1731-1753.
- Barber, S.A. 1995. Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. 2nd edition. John Wiley and Sons, New York.
- Bastías, E., Alcaraz, L.C., Bonilla, I., M. Carmen M.B., Bolaños, L., Carvajal, M. 2010. Interactions between salinity and boron toxicity in tomato plants involve apoplastic calcium. *Journal of Plant Physiology*. 167:54-60.
- Bastías, E., González, M.M.B., González M.C. 2004. Zea Mays L. Amylacea from the Illuta valley (Arica-Chile) tolerates salinity stress when high levels of boron are available. *Plant and Soil*. 267:73-84.
- Basurto, S.M., Núñez, B.A., Pérez, L.R.R., Hernández, R.O.A. 2008. Fisiología del estrés ambiental en plantas. *Synthesis*. Ed 48:Octubre-Diciembre.
- Bavaresco, L., Giachino, E., Colla, R. 1999. Iron chlorosis paradox in grapevine. *Journal of Plant Nutrition*. 22:1589-1597.

- Benavides, M.A. 2002. *Ecofisiología y química del estrés en plantas*, Departamento de Horticultura/UAAAN, Saltillo, Coah. 228 p.
- Bialczyk, J., Lechowski, Z. 1992. Absorption of HCO_3^- by roots and its effect on carbon metabolism of tomato. *Journal of Plant Nutrition*. 15:293-312.
- Bialczyk, J., Lechowski, Z., Libik, A. 1994. Growth of tomato seedlings under different HCO_3^- concentration in the medium. *Journal of Plant Nutrition*. 17:801-816.
- Bohnert, H.J., Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*. 14:89-97.
- Brown, P.H., Hu, H., Roberts, W. 1999. Occurrence of sugar alcohols determines boron toxicity symptoms of ornamental species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 124:347-352.
- Campbell, S.A., Nishio, J.N. 2000. Iron deficiency studies of sugar beet using an improved sodium bicarbonate-buffered hydroponic growth system. *Journal of Plant Nutrition*. 23:741-757.
- Castillo, E.G., Tuong, T.P., Ismail, A.M., Inubushi, K. 2007. Response to salinity in rice: comparative effects of osmotic and ionic stresses. *Plant Production Science*. 10:159-170.
- Cherry, J.H., Locy, R.D., Rychter A. 2000. *Plant Tolerance to Abiotic Stresses in Agriculture: Role of Genetic Engineering*. Kluwer Academic Publishers (ed.) Netherlands. 360 p.
- Clarkson, D.T., Hanson, J.B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 31:239-98.

- Dannel, F., Pfeffer, H., Römheld, V. 2002. Update on boron in higher plant-uptake, primary translocation and compartmentation. *Plant Biology*. 4:193-204.
- Duncan, R.R. 2000. Plant tolerance to acid soil constraints: genetic resources, breeding methodology, and plant improvement. In: Wilkinson R.E. (ed.), *Plant–Environment Interactions*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York. 456 p.
- FAO, 2009. Statistical Database. Web Site: <http://www.fao.org/> 15 julio del 2014.
- Flores, F.B., Sánchez-Bel, P., Estan, M.T., Martínez, R.M.M., Moyano, E., Morales, B., Campos, J.F., García, A.J.O., Egea, M.I., Fernández, G.N., Romojaro, F., Bolarin, M.C. 2010. The effectiveness of grafting to improve tomato fruit quality. *Scientia Horticulturae*. 125:211-217.
- Fukuda, A., Yazaki, Y., Ishikawa, T., Koike, S., Tanaka, Y. 1998. Na⁺/H⁺ antiporter in tonoplast vesicles from rice roots. *Plant Cell Physiology*. 39:196-201.
- Glenn, E.P., Brown, J.J., Khan, M.J. 1997. Mechanisms of salt tolerance in higher plants. In: *Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants*. Basra AS, Nasra RK (eds). Harwood Academic Publishers, New York, pp. 83-110.
- Goldberg, S. 1993. Chemistry and Mineralogy of Boron in Soils. In: *Boron and its Role in Crop Production*. Gupta U.C. (ed.) CRC Press, Boca Raton, FL. pp.3-44

- Goldberg, S., Lesch, S.M., Suarez, D.L. 2000. Predicting boron adsorption by soils using soil chemical parameters in the constant capacitance model. *Soil Science Society of America Journal*. 64:1356-1363.
- Grattan, S.R., Grieve, C. M. 1999. Salinity- Mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*. 78:127-157.
- Greenway, H., Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in non halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. 31:149-90.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51:463-689.
- He, Z., He, C., Zhang, Z., Zou, Z., Wang, H. 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stress. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 59:128-133.
- Jou, Y., Chiang, C.P., Jauh, G.Y., Yen, H.E. 2006. Functional characterization of ice plant SKD1, an AAA-type ATPase associated with the endoplasmic reticulum golgi network, and its role in adaptation to salt stress. *Plant Physiology*. 141:135-46.
- Keren, R., Bingham, F.T. 1985. Boron in water, soils and plants. *Advances in Soil Sciences*. 1:230-276.
- Liang, C., Zhang, X.Y., Luo, Y., Wang, G.P., Zou, Q., Wang, W. 2009. Over-accumulation of glycine betaine alleviates the negative effects of salt stress in wheat. *Russian Journal of Plant Physiology*. 56:370-6.

- Lichtenthaler, H. K. 1996. Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plants. *Journal of Plant Physiology*. 148:4-14.
- Lindsay, W.L. 1979. *Chemical Equilibria in Soils*. The Blackburn Press, Caldwell, NJ. 449 p.
- Lucena, J.L. 2000. Effects of bicarbonate, nitrate and other environmental factors on iron deficiency chlorosis. *Annual Review. Journal of Plant Nutrition*. 23:1591-1606.
- Manahan, S.E. 2007. *Introducción a la Química Ambiental*. Ed. Reverté Barcelona, España. pp. 46-48.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2nd ed. London: Academic Press. 889 p.
- Martínez, B.M.C., Bastías, E., Zhu, C., Schaffner, A.R., González, M.B., Gozáles, M.C., Carvajal, M. 2008. Boric acid and salinity on maize roots. Response of aquaporins ZmPIP1 and ZmPIP2 and ATPase in relation to water and nutrient uptake. *Physiologia Plantarum*. 132:479-90.
- McCray, J.M., Matocha, J.E. 1992. Effects of soil water levels on solution bicarbonate, chlorosis and growth of sorghum. *Journal of Plant Nutrition*. 15:1877-1890.
- Munns, R., James, R.A., Läuchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*. 57:1025-43.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59:651-681.

- Nable, R.O., Bañuelos, G.S., Paull, J.G. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil*. 198:181-198.
- Navarro, J.M., Martinez, V., Carvajal, M. 2000. Ammonium, bicarbonate and calcium effects on tomato plants grown under saline conditions. *Plant Science*. 157:89-96.
- Nilsen, E., Orcutt, D.M. 1996. *The Physiology of Plants under Stress-Abiotic factors*. John Wiley and Sons, Inc. New York. 704 p.
- Pearce, R.C., Li, Y., Bush, L.P. 1999. Calcium and bicarbonate effects on the growth and nutrient uptake of burley tobacco seedlings: hydroponic culture. *Journal of Plant Nutrition*. 22:1069-1078.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn S.E. 1992. *Biología de las Plantas*. Ed. Reverté. Barcelona, España. 525 p.
- Reddy, A.S.N. 2001. Calcium: silver bullet in signaling. *Plant Science*. 160:381-404.
- Reddy, V.S., Reddy, A.S.N. 2004. Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry*. 65:1745-76.
- Reid, R.J. 2007. Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley. *Plant and Cell Physiology*. 48:1673-1678.
- Reid, R.J., Hayes, A.J. E., Post, Stangoulis, J.C.R., Graham, D. 2004. A critical analysis of the causes of boron toxicity in plants. *Plant Cell and Environment*. 27:1405-1414.

- Rubio, F., Gassmann, W., Schroeder, J.I. 1995. Sodium-driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. *Science*. 270:1660-1663.
- Rudd, J.J., Franklin, T.V.E. 2001. Unravelling response specificity in Ca signalling pathways in plant cells. *New Phytologist*. 51:7-33.
- Sanders, D., Brownle, C., Harper, J. F. 1999. Communicating with calcium. *Plant cell*. 11:691-706.
- Silva, C., Aranda, F.J., Ortiz, A., Carvajal, M., Martínez, V., Teruel, J.A. 2007. Root plasma membrane lipid changes in relation to water transport in pepper: a response to NaCl and CaCl₂ treatment. *Journal Plant Biology*. 50:650-657.
- Smirnoff, N. 1995. *Environment and Plant Metabolism; Flexibility and Acclimation*. Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford, 270 p.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2006. *Plant physiology*. Fourth ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts 694 p.
- Takano, J., Miwa, K., Fujiwara, T. 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in Plant Science*. 13:452-457.
- Takkar, P.N., Ulrich, B., Meiwes, K.J. 1987. Method for estimation of CO₂ (aq) plus H₂CO₃, HCO₃⁻ and pH in soil solutions collected under field conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 150:319-326.
- Tester, M., Davenport, R. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*. 91:503-527.

- Vapaavuori, E.M., Pelkonen, P. 1985. HCO₃⁻ uptake through the roots and its effect on the productivity of willow cuttings. *Plant Cell and Environment*. 8:531-534.
- Walker, D.J., Leigh, R.A., Miller A.J. 1996. Potassium homeostasis in vacuolate plant cells. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 10510-10514.
- Whipker, B.E., Bailey, D.A., Nelson, P.V., Fonteno, W.C., Hammer, P.A. 1996. A novel approach to calculate acid additions for alkalinity control in greenhouse irrigation water. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 27:959-976.
- White, P.J., Broadley, M.R. 2003. Calcium in plants. *Annals of Botany*. 92:487-511.
- White, P.J., Karley, A.J. 2010. Potassium. *Cell Biology of Metals and Nutrients*. 17:199-224.
- Wimmer, M.A., Mühling, K.H., Läuchli A., Brown, P.H., Goldbach, H.E. 2003. The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant Cell and Environment*. 26:1267-1274.
- Zhang, J.Z., Creelman, R.A., Zhu, J.K. 2004. From laboratory to field. Using information from Arabidopsis to engineer salt, cold and drought tolerance in crops. *Plant Physiology*. 135:615-21.
- Zhu, J.K. 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. *Plant Physiology*. 124:941-948.

Zhu, J.K., Liu, J., Xiong, L. 1998. Genetic analysis of salt tolerance in Arabidopsis: Evidence for a critical role to potassium nutrition. *Plant Cell*. 10:1181-1191.