

**RESPUESTA A LA ALCALINIDAD EN AGUA DE RIEGO CON  
APLICACIONES SUPLEMENTARIAS DE CALCIO EN LISIANTHUS**

**(*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.)**

**LUCINA GÓMEZ PÉREZ.**

**TESIS**

Presentado como Requisito Parcial para

Obtener el Grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2013

Universidad Autónoma Agraria  
Antonio Narro  
Subdirección de Posgrado

**RESPUESTA A LA ALCALINIDAD EN AGUA DE RIEGO CON  
APLICACIONES SUPLEMENTARIAS DE CALCIO EN LISIANTHUS  
(*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.)**

TESIS POR

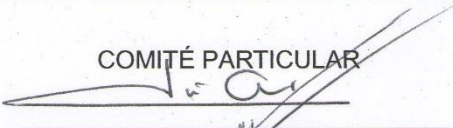
LUCINA GÓMEZ PÉREZ

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

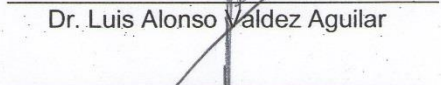
**MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA**

COMITÉ PARTICULAR

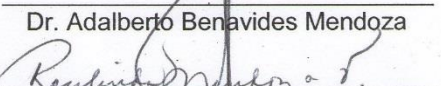
Asesor Principal:

  
Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar

Asesor:

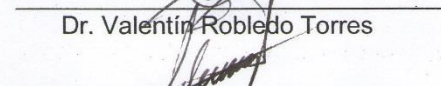
  
Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:

  
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor:

  
Dr. Valentín Robledo Torres

  
Dr. Fernando Ruiz Zarate

Subdirector de Posgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Diciembre 2013

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	vi
<b>DEDICATORIAS</b>	vii
<b>COMPENDIO</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
Objetivos generales	3
Objetivos particulares	3
Hipótesis	3
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
Estrés Ambiental	4
Tipos de estrés	5
Alcalinidad	5
Alcalinidad en el suelo	5
Alcalinidad en el agua de riego	7
Efectos de la alcalinidad en las plantas	8
Alcalinidad y nutrición en las plantas	9
Nitrógeno	9
Potasio	10
Fósforo	10
Magnesio	11
Zinc	11
Hierro	12
El calcio en las plantas	13
Lisianthus	15
Sistemas antioxidantes en las células vegetales	17
Actividad enzimática	18
<b>ARTICULO</b>	20
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>	41
<b>LITERATURA CITADA</b>	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Efecto del pH de la solución en la proporción de las especies de carbonato. Adaptado por Lindsay (1979). 6
- Figure 2.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on shoot length (A), total dry mass (B), leaf dry mass (C) and root dry mass (D) of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination 27
- Figure 3.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on catalase activity and peroxidase activity of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination. 30

## ÍNDICE DE TABLAS

- Table 1.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on growth parameters of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cv. ABC Blue 28
- Table 2.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on selected physiological parameters of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cv. ABC Blue. 31
- Table 3.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on chlorophyll concentration in young leaves of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cv. ABC Blue. 32
- Table 4.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on macronutrient concentration ( $\text{mmol kg}^{-1}$ ) in shoots of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cv. ABC Blue. 33
- Table 5.** Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on micronutrient concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) in shoots of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) cv. ABC Blue. 34

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por permitirme continuar con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo otorgado.

Al Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar por su amistad y amable disposición para dirigir este trabajo de investigación, por sus valiosas sugerencias y por todos los conocimientos que compartió conmigo, gracias por brindarme su apoyo incondicional.

A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal, por el apoyo otorgado para la realización de análisis de laboratorio, y en la revisión del trabajo de investigación.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza, por el apoyo en la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Valentín Robledo Torres, por su colaboración en la revisión de este trabajo de investigación.

A todos y cada uno de mis profesores de la maestría, por participar en mi formación profesional y preparación.

T.A. Martina De La Cruz Casillas por su apoyo para la realización del trabajo de laboratorio.

## DEDICATORIAS

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, a mis padres *Feliciano Gómez Ruíz e Isabel Pérez Cruz* gracias por ser el pilar fundamental en todo lo que soy.

A mis hermanos *Paz, Flor e Israel* por su cariño y ayuda brindada en todo momento.

A *Lino Ramírez* por su paciencia, por su comprensión en todo momento y por el apoyo incondicional brindada. Gracias

A mis amigos: *Rosibel, Antonia, Rosa Gloria, Iveth Dalila, Aracely, Gabriel, Mary, Antonio, Carlos, Neymar, Martel, Fany, Norberto.*  
Gracias por su amistad.

*Xkälén yu yaa tzani rakälénreoni*

*Tzaro tuchi yetzilyuni,*

*Xkälén gubitza yugutza rlen*

*Ruzni xnezaro gatzeajro.*

*Xkälénka bunachi busajnikininedani,*

*Benakekia bini yu ikiajloke.*

*Gracias a la madre tierra Por cuidarnos con su manto*

*durante el tiempo que transitamos por esta tierra*

*Gracias al hermano sol por alumbrar todos los días*

*el sendero de cada uno de nosotros.*

*Gracias a mis maestros por regalarme la luz del conocimiento,*

*el cual llevaré para multiplicarlo en otros rincones de la tierra.*



**COMPENDIO**

**RESPUESTA A LA ALCALINIDAD EN AGUA DE RIEGO CON  
APLICACIONES SUPLEMENTARIAS DE CALCIO EN LISIANTHUS  
(*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.)**

**POR**

**LUCINA GÓMEZ PÉREZ**

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

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. Diciembre del 2013**

**Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar -Asesor-**

**Palabras clave:** Bicarbonato; Calcio; Lisianthus; Nutrición de las plantas;  
Cultivo sin suelo; Sistema antioxidante.

La alcalinidad afecta a las tierras cultivables, causando problemas nutricionales en las plantas hortícolas cultivadas. La alcalinidad del agua es causada principalmente por carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), que a altas concentraciones son perjudiciales para el crecimiento de las plantas. La calidad de las plantas ornamentales se ve gravemente afectada por la alcalinidad debido a la presencia de los síntomas de deficiencia de nutrientes en las hojas jóvenes. *Lisianthus* es una planta nativa de las zonas áridas del sur de Estados Unidos y el norte de México y el interés ha despertado en cuanto a su tolerancia a ambientes extremos, estudios indican que *lisianthus* puede tolerar el riego con agua de alta salinidad mientras sodio y cloro no son los iones predominantes. El presente estudio se realizó para evaluar la respuesta de *lisianthus* con Ca suplementario, cuando se riegan con soluciones que contengan altos niveles de alcalinidad. La alcalinidad redujo el crecimiento, sin embargo, las plantas suplementadas con las dosis más altas de Ca mejoraron el crecimiento y la acumulación de biomasa seca en los niveles de alcalinidad de 4 a 7 meq  $\text{L}^{-1}$  de  $\text{HCO}_3^-$ ; lo que sugiere que el Ca contribuye al aumento de la tolerancia a la alcalinidad. El efecto favorable de Ca complementario fue el mantenimiento de una alta conductancia estomática y la tasa de transpiración cuando la alcalinidad fue de 4 meq  $\text{L}^{-1}$ , que a su vez explica el  $\psi_w$  menor en las hojas jóvenes. En las plantas regadas con soluciones suplementarias de Ca, la biomasa seca total más alta se relacionó con una conductancia estomática mayor, sin embargo, cuando la conductancia fue mayor que 0,280  $\text{cm s}^{-1}$ , como en las plantas sin Ca suplementario, la acumulación de biomasa seca tendió a disminuir con el aumento de la conductancia. Cuando se proporcionó una

concentración normal de Ca hubo una interrupción en el funcionamiento de estomas ya que las plantas mostraron un aumento en la conductancia estomática y la tasa de transpiración, lo que se asoció con una reducción en la concentración de K en la parte aérea, sin embargo, con Ca mejoró la absorción de K cuando la alcalinidad fue de 4 meq L<sup>-1</sup> al permitir una reducción menos marcada en la concentración de K y Ca en la parte aérea. La concentración de clorofila se redujo mediante el aumento de la alcalinidad debido a una disminución de Fe en la parte aérea, sin embargo, con Ca complementario también contribuyó en el aumento de la tolerancia a la alcalinidad a 4 meq L<sup>-1</sup> por el mantenimiento de una concentración alta de Fe en la parte aérea. El aumento de la alcalinidad causó un aumento en las actividades de catalasa y peroxidasa, lo que indica que *lisianthus* respondió a la tolerancia mediante la mejora de la actividad de tales enzimas para reducir el daño oxidativo causado por especies reactivas del oxígeno; sin embargo, el Ca suplementario se asocia con una mayor activación de tales enzimas

**ABSTRACT**

**RESPONSE TO ALKALINITY IN WATER THROUGH SUPPLEMENTARY  
CALCIUM APPLICATIONS IN LISIANTHUS (*Eustoma grandiflorum* (Raf.)  
Shinn.)**

**BY**

**LUCINA GÓMEZ PÉREZ**

**MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. December 2013**

**Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar -Advisor-**

**Keywords:** Bicarbonate; Calcium; Lisianthus; Plant nutrition; Soilless-culture  
Antioxidant system.

Alkalinity affects the arable lands by causing nutritional problems in cultivated horticultural plants. Alkalinity in water is caused mainly by carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ), which at high concentrations are detrimental for plant growth. The quality of ornamental plants is severely compromised by alkalinity due the presence of the nutrient deficiency symptoms in young leaves. Lisianthus is native to the arid zones of southern United States and northern México and interest has aroused as to its tolerance to extreme environments; reports indicate that lisianthus can tolerate irrigation with water of high salinity as long as sodium and chloride are not the predominant ions. The present study was conducted to assess the response of lisianthus to increased Ca when irrigated with solutions containing high levels of bicarbonate-induced alkalinity. Alkalinity reduced the growth, however, plants supplemented with increased Ca exhibited improved, or no detrimentally affected, growth and DM accumulation at alkalinity levels from 4 to 7 meq  $\text{L}^{-1}$  of  $\text{HCO}_3^-$ , suggesting that Ca contributes to the increase of the tolerance to alkalinity. The favorable effect of supplementary Ca was on maintaining a high stomatic conductance and transpiration rate when alkalinity was at 4 meq  $\text{L}^{-1}$ , which in turn explained the lower  $\psi_w$  in young leaves. In plants irrigated with solutions including supplementary Ca, higher total DM was associated with a higher stomatic conductance, however, when conductance was higher than 0.280  $\text{cm s}^{-1}$ , as in plants with no supplemental Ca, DM accumulation tended to decrease with increasing conductance. When normal Ca concentration was provided there was a disruption on stomata functioning as plants showed an increase in stomatal conductance and transpiration rate, which was associated with a reduction in shoot K

concentration, however, Ca ameliorated the uptake of K when alkalinity was 4 meq L<sup>-1</sup> by allowing a less marked reduction in shoot K concentration and Ca. Chlorophyll concentration was reduced by increasing alkalinity due to a decrease in shoot Fe, however, supplementary Ca also contributed in increasing the tolerance to alkalinity at 4 meq L<sup>-1</sup> by sustaining a high shoot Fe concentration. Increasing alkalinity caused an increase in catalase and peroxidase activities, indicating that *lisianthus* responded to the stress by enhancing the activity of such enzymes to reduce the oxidative damage caused by reactive oxygen species; nonetheless, supplementary Ca was associated with a higher activation of such enzymes.

## INTRODUCCIÓN

La alcalinidad afecta una parte importante de las zonas áridas y semiáridas debido a que causa varios problemas nutricionales en las plantas como la clorosis en hojas jóvenes debido a la incapacidad de las plantas de absorber suficiente hierro (Fe). La alcalinidad puede inducir además deficiencias de cobre (Cu), zinc (Zn), potasio (K) y fósforo (P) a causa de su baja solubilidad, y de nitrógeno (N) debido generalmente al bajo contenido de materia orgánica (Call, 1999, FAO 2000).

La alcalinidad del agua es causada por elevados contenidos de carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) los cuales pueden ser perjudiciales para el crecimiento de las plantas. En el agua de riego, los principales componentes de la alcalinidad llevan a la formación de formas insolubles de P y micronutrientes (Cartmill et al., 2007), además de calcio (Ca) y magnesio (Mg). La elevada alcalinidad del agua de riego da como resultado el incremento del pH del medio de cultivo por la neutralización de  $\text{H}^+$  por  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  (Valdez-Aguilar y Reed, 2007), y finalmente, el crecimiento de la planta se altera por la precipitación de micronutrientes (Valdez-Aguilar et al., 2009).

Existen plantas ornamentales que toleran la alcalinidad en el agua de riego pues algunos estudios han demostrado que estas pueden crecer bajo tales condiciones (Valdez-Aguilar and Reed, 2007). Cartmill et al. (2008) demostraron

la posibilidad de aumentar la tolerancia en vinca (*Catharanthus roseus*), cuando estas fueron inoculadas con hongos micorrícicos arbusculares (AMF).

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf), es un planta ornamental que está adquiriendo importancia como flor de corte por tener una alta demanda y potencial de comercialización tanto en el mercado interno como el de exportación. El lisianthus es una especie originaria de las praderas húmedas de la zona meridional de los Estados Unidos y norte de México (Melgares de Aguilar, 1996). En el mercado nacional su demanda va en aumento ya que anteriormente era poco conocida y en los últimos años ha aumentado considerablemente.

El Ca es un elemento estructural en la planta ya que constituye la lámina media, las paredes y membranas de la célula y, además, participa en la división y extensión celulares, influye en la compartimentalización de la célula, modula la acción de hormonas y señales y contribuye al equilibrio iónico de la célula (Marschner, 1995). Las concentraciones bajas de Ca en el citosol se dan porque las membranas tienen una baja permeabilidad al elemento (Marschner, 1995), lo cual es importante porque actúa como mensajero secundario dado por estímulos externos, inducen respuestas fisiológicas y permite el flujo del Ca hacia todas las células de la planta (Sanders et al., 2002; White, 2001).

Existen investigaciones que indican que aplicaciones complementarias de Ca permiten a las plantas aumentar la tolerancia a diversos factores de estrés. Kaya et al. (2002) demostraron que aplicaciones suplementarias de Ca incrementaron el crecimiento de las plantas y el rendimiento en fresa cultivadas bajo condiciones de salinidad.



Por lo anteriormente mencionado, en el presente estudio se evaluó el efecto de una concentración elevada de Ca en la solución nutritiva para determinar si influye en la tolerancia de la alcalinidad en el agua riego en plantas de lisianthus cultivadas en condiciones de hidroponia.

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto del Ca a la tolerancia de la alcalinidad en el agua de riego en plantas de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.)

### **Objetivos Específicos**

- Definir si el Ca permite elevar la tolerancia a la alcalinidad.
- Evaluar el efecto del Ca y la alcalinidad sobre el estado nutrimental del lisianthus.
- Evaluar el efecto del calcio en la fisiología de la planta de lisianthus.

### **HIPÓTESIS**

Aplicaciones suplementarias de Ca permiten elevar la tolerancia a la alcalinidad en el agua de riego en plantas de lisianthus.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Estrés Ambiental**

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).

La biodiversidad hace que los requerimientos nutricionales en las plantas sean diferentes, sobreviviendo algunas especies en condiciones adversas, debido a una adaptación genética a su hábitat e incluso variedades de una misma especie presentan diferencias en la absorción, translocación, acumulación y uso de los nutrientes (Otani y Ae, 1996).

El estrés ambiental es una fuerte restricción para el aumento de la productividad y de la extensión de los cultivos. Se estima que únicamente un 10% de la superficie de tierra arable se encuentra libre de estrés. Cerca del 20% de la tierra presenta algún tipo de deficiencia o toxicidad mineral, 26% es afectada por estrés de sequía y 15% por congelación (Blum, 1988). Levitt, (1980) definió el estrés como: cualquier factor ambiental potencialmente desfavorable para los organismos vivos.

## **Tipos de estrés**

Existen variadas clasificaciones de los factores de estrés. En general estos pueden ser clasificados como estreses bióticos y abióticos (Azcon y Talon 2008). Los estreses bióticos son causados por la acción de otros seres vivos: animales, otras plantas (por competencia, alelopatía, etc.) microorganismos (bacterias y hongos) y otros agentes fitopatógenos como los virus y viroides.

Los estreses abióticos causados por radiaciones, hiperoxia, anoxia, deficiencia mineral, frío, calor, sequia, NaCl, choque osmótico, y por las especies reactivas de oxígeno (ERO).

## **Alcalinidad**

La alcalinidad se define como la concentración de álcalis solubles con la capacidad para neutralizar los ácidos (Bailey, 1996). Los principales iones que causa la alcalinidad son el bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), mientras que el hidróxido, borato, amoníaco, bases orgánicas, fosfatos y silicatos son considerados contribuyentes menores (Petersen, 1996).

## **Alcalinidad en el suelo**

Los suelos alcalinos cubren alrededor del 25% de la superficie y son particularmente abundantes en regiones áridas y semiáridas de todo el mundo. En México este tipo de suelos se localiza en las regiones del centro y norte. Entre las características de estos suelos destaca su elevado contenido de cationes (Ca y Mg), que eleva el pH a niveles superiores de 8.5, provocando

que nutrientes esenciales se transformen en moléculas insolubles difícilmente utilizables por las plantas (Marschner, 1995).

A medida que aumenta la alcalinidad del suelo, los micronutrientes son transformados poco a poco en óxidos, fosfatos, hidróxidos y carbonatos, con una creciente indisponibilidad para las plantas a medida que se forman complejos insolubles con determinadas sustancias ahí presentes, siendo de esta manera substraídos a la nutrición de las plantas. En estas condiciones de alcalinidad en cambio, es óptimamente absorbido el molibdeno que no es asimilable en condiciones de acidez. La alcalinidad del suelo causa varios problemas nutricionales en las plantas como la clorosis, por la incapacidad de las plantas de absorber suficiente hierro o manganeso; también pueden ocurrir deficiencias de cobre, zinc, potasio, de fósforo a causa de su baja solubilidad y de nitrógeno debido generalmente al bajo contenido de materia orgánica (Call, 1999; FAO, 2000).

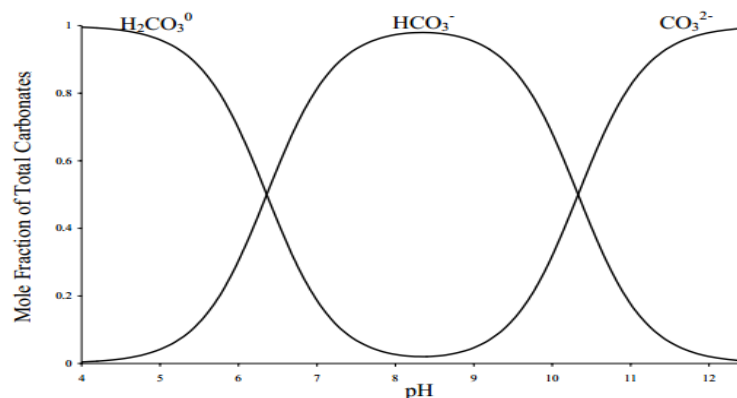


Figura 1. Efecto del pH de la solución en la proporción de las especies de carbonato. Adaptado por Lindsay, (1979).

La forma de carbonato predominando en los suelos está determinada por el pH del suelo (Whipker, 1996). Como se observa en la figura 1, la proporción de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  y  $\text{HCO}_3^-$  está en equilibrio cuando el pH de la solución es igual a 6.36, pero a medida que aumenta el pH, la proporción de  $\text{HCO}_3^-$  aumenta, mientras que la proporción de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  comienza a disminuir.

### **Alcalinidad en el agua de riego**

La calidad del agua es un factor importante en la industria ornamental porque puede determinar qué especies se pueden cultivar, la necesidad de tratamiento previo del agua y el método para los parámetros de calidad del agua a utilizar, la frecuencia y la cantidad de riego. De los parámetros de calidad del agua, la alcalinidad es considerado crítico debido a sus efectos directos e indirectos en la planta.

La alcalinidad ocurre en regiones áridas donde se tienen un déficit neto de agua en el perfil del suelo, el movimiento del agua es hacia arriba de la zona de meteorización, aunque la distribución estacional de lluvias podría determinar, en que parte del año, exista suficiente agua para el lavado de iones. Sin embargo, predomina el ascenso capilar y la evaporación, y se dará este movimiento de agua con sus iones hacia arriba, el resultado es que iones como Na, Mg, Ca y  $\text{HCO}_3^-$  pueden alcanzar altas concentraciones. Estas soluciones pueden precipitar sales en el perfil del suelo formando diferentes tipos de horizontes (Birkeland, 1984; Boul et al., 1981).

## **Efectos de la alcalinidad en las plantas**

Algunos autores mencionan que la alcalinidad afecta el crecimiento de las plantas a través de una disminución en la solubilidad de los nutrientes. La disminución de la solubilidad es causada por el incremento de pH asociado con concentraciones crecientes de carbonatos (Lindsay y Thorpe, 1954; Lunt et al., 1956.) Por ejemplo, la concentración de Fe soluble en el suelo disminuye 1000 veces por unidad de pH. El Zn, Cu, Mn también son menos solubles a la alcalinidad inducida por un pH alto (Barber et al., 1995).

Otros autores mencionan que el pH alto causado por la alcalinidad directamente puede inhibir el crecimiento de las plantas, como se demostró en las especies de *Lupinus* (Bertoni et al., 1992). Sin embargo, en la mayoría de los casos, no es el pH, sino la elevada concentración de  $\text{HCO}_3^-$  lo que es el factor principal para la inhibición del crecimiento vegetal (Lee y Woolhouse, 1969) debido a sus efectos tóxicos (Matkin y Petersen, 1971).

El síntoma más visible de la alcalinidad excesiva es la inducción de una clorosis intervenal en las hojas más jóvenes de las plantas y retraso del crecimiento (Pearce et al., 1999 a y b). La clorosis de la hoja se relaciona con una disminución en el contenido de clorofila en las hojas superiores, como se ha informado en cultivares de girasol (Alcántara et al., 1988), soya (McCallister et al., 1989), vid (Nikolic y Kastori, 2000), caña de azúcar (Campbell y Nishio, 2000), durazno (Alcántara et al., 2000) y otras plantas. La clorosis foliar se ha atribuido a un pH alto inducido por la deficiencia de Fe debido a una disminución de la absorción de Fe (Bertoni et al., 1992). La alcalinidad reduce la

solubilidad de Fe en valores altos de pH, ya que el Fe forma hidróxidos y otros compuestos insolubles (De la Guardia y Alcántara, 2002).

También la fotosíntesis, conductancia estomática disminuyen con las concentraciones de alcalinidad como se ha reportado en cultivares de *Lupinus angustifolius* L. (Tang y Turner, 1999) y en girasol (Liu y Shi, 2010).

## **Alcalinidad y nutrición en las plantas**

### **Nitrógeno**

El nitrógeno es esencial para el metabolismo de los carbohidratos, estimula el crecimiento radicular y el desarrollo de las plantas, así como la asimilación de otros nutrimentos (Brady, 1990).

La absorción del  $\text{NO}_3^-$  es a través de cotransporte de  $\text{H}^+/\text{NO}_3^-$  asociada con una acidificación del pH intracelular y una alcalinización de la rizósfera, lo cual puede tener efectos negativos sobre la adquisición de nutrimentos minerales en suelos alcalinos y también sobre la disponibilidad dentro de la planta de algunos nutrimentos como el Fe (Alloush et al., 1990).

La concentración total de N en plantas tratadas con alcalinidad se redujo en lupinus blanco (Bertoni et al., 1992), tabaco (Pearce et al., 1999b), apio (Tremblay et al., 1989), maíz, sorgo y soya (Alhendawi et al., 1997). En contraste, la concentración de N aumentó ligeramente en plantas de tabaco tratados con 8 mM  $\text{HCO}_3^-$  (Pearce et al., 1999a.).

## **Potasio**

El K es importante debido a que es un elemento requerido en procesos tales como: síntesis de proteínas, activación enzimática, transporte y translocación de asimilados en la membrana celular, fotosíntesis, neutralización de aniones y regulación del potencial osmótico (Pardo et al., 2006), tolerancia al estrés y para el transporte de fotoasimilados desde los tejidos fuente vía floema a los tejidos de almacén (Pettigrew, 2008; Marschner, 1995).

La concentración de K en plantas tratadas con  $\text{HCO}_3^-$  se incrementó en plantas de girasol (Alcántara et al., 1988), lupinus blanco (Bertoni et al., 1992), apio (Tremblay et al., 1989), tabaco (Pearce et al., 1999b), durazno (Alcántara et al., 2000) y tomate (Bialczyk et al., 1994). La concentración se redujo en el tabaco (Pearce et al., 1999b), crisantemo (Kramer y Peterson, 1990), maíz, sorgo, y frijol (Alhendawi et al., 1997), arroz (Yang et al., 1993) y rosas (Fernández-Falcón et al., 1986). En la hojas la concentración de K no se vio afectada en plantas de olivo y durazno tratados con  $\text{HCO}_3^-$ , pero disminuyó en la raíz (De la Guardia y Alcántara, 2002).

## **Fósforo**

El pH es un factor que controla el aprovechamiento de las formas asimilables de P por las plantas. En los suelos alcalinos, el P se inmoviliza bajo la forma de fosfatos cálcicos. Por otra parte, el anión  $\text{HPO}_4^{2-}$ , cuya formación se favorece en estos rangos de pH, es precipitado por acción del calcio dando  $\text{HPO}_4\text{Ca}$ , que es insoluble (Ortega, 1978).



La concentración de P disminuyó en plantas tratadas con  $\text{HCO}_3^-$  en girasol (Alcántara et al., 1988), tabaco (Pearce et al., 1999b) y crisantemo (Kramer y Peterson, 1990), pero no se vio afectada en *Lupinus blanco* (Bertoni et al., 1992) y apio (Tremblay et al., 1989).

### **Magnesio**

En los suelos alcalinos el Mg es generalmente segundo en abundancia después de Ca en los sitios de intercambio catiónico. Los iones de Mg se parecen al Ca en su comportamiento en las reacciones de intercambio iónico. Estas reacciones de intercambio de cationes son generalmente reversibles, aun en situaciones donde cationes adsorbidos más fuertemente pueden ser reemplazados por manipulación de la solución del suelo (Mikkelsen, 2010).

Los niveles de Mg suelen aumentar cuando concentración de la alcalinidad es alta, según lo reportado en *lupinus blanco* (Bertoni et al., 1992), girasol (Alcántara et al., 1988) y durazno (De la Guardia y Alcántara, 2002). En el tabaco, la concentración de Mg se mantuvo sin cambios (Pearce et al., 1999b) y en aceite de oliva se redujo (De la Guardia y Alcántara, 2002) cuando la concentración de  $\text{HCO}_3^-$  era alta.

### **Zinc**

El alto contenido de carbonato o pH alcalino limita la disponibilidad de elementos menores, incluyendo al zinc. El zinc forma compuestos poco solubles como  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ ,  $\text{ZnCO}_3$  y  $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$  (Kabata y Pendias, 1984). En los suelos alcalinos, el zinc tiene una movilidad limitada debido a que el carbonato de

calcio reacciona con el zinc, lo que reduce su disponibilidad (Fassbender y Bornemisza, 1987), como se observa en oliva, en durazno (De la Guardia y Alcántara, 2002) y lupinus blanco (Bertoni et al., 1992).

## **Hierro**

Marschner, (1995) señala que el bicarbonato es responsable directa e indirectamente de alterar el consumo, translocación y utilización del hierro por las plantas. La importancia del hierro en las plantas se debe a que interviene en diversos procesos metabólicos (Terry y Zayed, 1995). Forma parte de numerosos sistemas enzimáticos con y sin grupo hemo, participando en procesos de óxido-reducción especialmente en mitocondrias y cloroplastos. El Fe también interviene en la fotosíntesis debido a que cataliza la síntesis de clorofila (Miller et al., 1984) e influye en la morfología de los cloroplastos (Maschner, 1995). Su deficiencia produce la alteración de la estructura y funciones de los cloroplastos dando lugar a una reducción del número de tilacoides y granas (Terry y Abadía, 1986). La concentración de Fe disminuyó en las plantas tratadas con  $\text{HCO}_3^-$  según lo reportado por Chunhui et al. (2006) en *Pyrus betulaefolia* y *Pyrus xerophila* fue más tolerante ya que mostró mayor contenido de clorofila en las hojas. Campbell y Nishio (2000) en plantas de remolacha susceptibles a deficiencia de Fe, también encontraron que la concentración de clorofila en la hoja disminuyó en mayor grado que en plantas tolerantes. Shmidt (2003) y Álvarez-Fernández et al. (2007) mostraron que las hojas afectadas por clorosis férrica no modifican su concentración de Ca, sino más bien incrementan la absorción y acumulación de K.

## **El calcio en las plantas**

El Ca es un elemento estructural en la planta ya que constituye la lámina media, las paredes y membranas de la célula y, además, participa en la división y extensión celulares, influye en la compartimentalización de la célula, modula la acción de hormonas y señales, estabiliza la pared y membrana, y contribuye al equilibrio iónico de la célula (Marschner, 1995). Para la compartimentalización de la célula, la distribución del Ca se produce cuando la cantidad de iones Ca absorbidos por la raíz. Cuando hay una buena absorción, la mayor proporción de Ca total está en la lámina media, seguido por las membranas, los organelos y por último el citosol. Las concentraciones en el citosol son de 0,1 a 0,2  $\mu\text{M}$ , mientras que en las vacuolas se encuentra 105 veces más, en el cloroplasto presenta un rango de 6,5 a 15 nM y en el estroma 2,4 a 6,3  $\mu\text{M}$  (Marschner, 1995). En el apoplasto las concentraciones son más altas que en cualquier otro organelo, lo cual es lógico al saber que es la vía en donde este elemento se mueve mejor a través de toda la planta (White, 2000); sin embargo, el Ca no se encuentra libre en el apoplasto sino que está unido en un 51% a pectatos, 27% al agua soluble, 17% a fosfatos, 4% a oxalatos y 1% en forma residual (Marschner, 1995). Las concentraciones bajas de Ca en el citosol se debe a que las membranas tienen una baja permeabilidad al elemento (Marschner, 1995), lo cual es importante porque actúa como mensajero secundario dado por estímulos externos al inducir respuestas fisiológicas y permitir el flujo del Ca hacia todas las células de la planta (Sanders et al., 2002; White, 2001).

Cuando las concentraciones de Ca libre en el citosol aumentan, la acción de las membranas es remover este elemento hacia el apoplasto o acumulado en los organelos por medio de bombas de Ca-ATPasa, manteniendo así concentraciones bajas en el citosol. Las diferentes concentraciones de Ca en el citoplasma y apoplasto permite que haya diferenciación entre cada uno de ellos y, por ende, la compartimentalización (Marschner, 1995). Otra de las funciones del Ca es generar estabilización de la pared y las membranas celulares mediante su interacción con el ácido péptico que está entre la pared celular y la lámina media. Esta reacción genera el pectato de Ca o pectinas, las cuales confieren estabilidad e integridad a la pared celular y, en general, a todos los tejidos de la planta (Salisbury y Ross, 1994) que a menudo son degradadas por la poligacturonasa generando una desintegración de la pared celular. El Ca también inhibe drásticamente la acción de la poligacturonasa, porque los niveles altos de Ca en el apoplasto de las células generan mayor proporción de pectatos y así mayor resistencia a la desintegración de las paredes (Marschner, 1995; Romeis et al., 2001; Uhm et al., 2002).

La señalización del Ca en la planta, una de las funciones más estudiadas, ocurre porque la inducción de señales se da por estímulos en la planta que pueden activar canales de Ca en las membranas, incrementando así la entrada de Ca en el citoplasma (Bush, 1995). La entrada de iones de Ca ocasiona un aumento, a su vez, genera cascadas de respuesta, por lo cual se le denomina mensajero secundario (Sanders et al., 2002). Según Yang y Poovaiah (2003) las señales recibidas en la membrana son transmitidas por el Ca que hay en el retículo endoplasmático y la vacuola hacia unas proteínas del citoplasma

llamadas calmodulinas (CaM) y proteínas dependientes de Ca-quinasas (CDPK). Las CaM siempre están unidas a cuatro iones de Ca, por tanto, la concentración de Ca en el citoplasma determina una mayor o menor acción de las proteínas ante cualquier tipo de señal (Marschner, 1995). Cuando los iones de Ca se ubican sobre la membrana plasmática se inicia la señalización y se activan canales de Ca que permiten la entrada o salida de dicho catión además del potasio y cloro; este tipo de canales también se presentan en las vacuolas, retículo endoplasmático, cloroplasto y núcleo (White y Davenport, 2002; White, 2000; Sanders et al., 2002).

### **Lisianthus**

Lisianthus es una planta originaria de las praderas húmedas de la zona meridional de los Estados Unidos y del norte de México, perteneciente a la Familia de las Gentianáceas (Melgares de Aguilar, 1996).

Su hábitat natural le permite adaptarse a condiciones de baja humedad relativa y temperaturas hasta cierto punto más extremas que la generalidad de las flores cultivadas. Normalmente se le encuentra creciendo a lo largo del cauce de los arroyos y ríos donde siempre tienen acceso al agua. Es una planta de ciclo anual o bienal. Forma una roseta de hojas, sobre la que se desarrolla un tallo de 40 o 50 cm de largo en cuyo extremo aparecen las flores largamente pediceladas de 6 a 9 centímetros de diámetro y de colores entre el azul y el púrpura, en las variedades silvestres. (Melgares de Aguilar, 1996).

La primera cosecha la planta da tres a cuatro tallos florales, la segunda cosecha de flores con tallos más cortos. En vida poscosecha las flores duran de 10 a 15 días, con el uso de conservadores es posible prolongar hasta 30 días la vida de florero (Loyola y Vargas, 2005).

Durante los primeros 20 o 30 días, la planta desarrolla poco su parte aérea y se incrementa el volumen de sus raíces. En el segundo mes, el tallo se alarga y la planta emite otros tallos secundarios, en los que aparecen los botones florales. La fase final, es el tercer mes, los botones se desarrollan a la vez que sus pedúnculos se alagan hasta alcanzar su altura definitiva. Después estos botones cambian de color, pasando del verde inicial al de la variedad que se haya seleccionado para finalmente abrirse (Oren et al., 1999).

Es una especie poco cultivada, pero que está cobrando alto interés en los mercados internacionales (Namesny, 2005). La flor de *E. grandiflorum* tiene gran aceptación en el mercado internacional por su variedad de colores y número de botones florales, características que la hacen Muy atractiva al consumidor.

En México *E. grandiflorum* es una especie de reciente introducción cuya demanda en el mercado nacional va en aumento, por lo que se considera un cultivo con amplias perspectivas

Lisianthus es una planta que puede tolerar ambientes extremos. Valdez-Aguilar et al. (2013) mencionan que lisianthus puede tolerar la irrigación con agua altamente salina tanto como sodio y cloro que no son iones predominantes.

Meir et al. (2010), demostró que al inocular hongos micorrizicos arbusculares en *lisanthus* cultivado en zonas semiáridas, el crecimiento y rendimiento se incrementan.

### **Sistemas antioxidantes en las células vegetales**

La función química de los antioxidantes es ceder potencial reductor a los compuestos oxidantes capaces de dañar a los componentes celulares. Los productos finales de esta reacción de disipación energética antioxidante-oxidante son comúnmente el  $O_2$  y el  $H_2O$ , acompañados de liberación de calor. Los compuestos oxidantes más abundantes en las células vegetales se derivan de la activación de la molécula de dioxígeno ( $O_2$ ), lo que da lugar a especies químicas parcialmente reducidas, como el oxígeno singlete  $O_2^1$  y el radical superóxido ( $O_2^-$ ) que constituyen las especies activas (o reactivas) de oxígeno (ROS) primarias. Las reacciones posteriores de las especies activas de oxígeno primarias con los componentes celulares, forman otros radicales libres (como el radical hidroxilo  $HO^-$ ) u otros compuestos oxidantes como el peróxido de hidrógeno,  $H_2O_2$ , que tienen carácter oxidante pero no son radicales libres (Mittler, 2002).

Tanto en el caso de factores bióticos como abióticos, la sobreproducción de las ROS causan estrés oxidativo celular, aunque tales compuestos también parecen cumplir con la importante función de indicadores del estrés y segundos mensajeros en las cadenas de transducción de señales de respuesta al estrés (Mittler, 2002).

## **Actividad enzimática**

Las enzimas antioxidantes son el principal sistema de defensa frente al daño oxidativo y se encarga de eliminar las especies reactivas de oxígeno, especialmente el radical superóxido y el peróxido de hidrógeno, para evitar que, a partir de estos, se generen otras especies más reactivas y peligrosas como el radical hidroxilo, el oxígeno singlete y el peroxinitrilo.

La catalasa es una enzima hemoproteica que cataliza la dismutación del peróxido de hidrógeno rompiéndolo directamente hasta oxígeno molecular y en agua, en ausencia de un sustrato adicional (Mathews et al., 2002)

Esta enzima es un antioxidante fundamental y esencial, y al parecer no solo toma papel en la degradación de  $H_2O_2$  endógeno peroxisomal, si no también extraperoxisomal (Wanders et al., 2006; Shimozawa, 2007).

En el caso de la CAT, estudios realizados con plantas transgénicas de tabaco han demostrado que resulta ser indispensable para la tolerancia al estrés oxidativo, ya que plantas que no poseen actividad de CAT presentan altos niveles de ROS en respuesta al estrés, tanto biótico como abiótico (Willekens et al., 1997).

La peroxidasa (POX) pertenece al grupo de enzimas que integran el sistema antioxidante de las plantas superiores, los cuales son de naturaleza glicoproteica y se localizan principalmente en el citoplasma, la vacuola o en el apoplasto, asociadas a la pared celular (Mittler et al., 2004). Las POX se caracterizan por catalizar la reducción del peróxido de hidrógeno a agua, con la



oxidación simultánea de co-sustratos no específicos, aunque son más frecuentes compuestos fenólicos (Silveira et al., 2005).

Las peroxidasas de plantas superiores están implicadas en una gran variedad de procesos fisiológicos, a lo largo de todo el ciclo vital de la planta, desde el nacimiento a la senescencia, por ejemplo en el crecimiento, desarrollo y endurecimiento de la pared celular, en la lignificación y suberización, en el catabolismo de auxina y en la defensa frente al estrés oxidativo y el ataque de patógenos. Además de esta funcionalidad dentro de la planta, estas enzimas son utilizadas ampliamente por la industria, en la síntesis de polímeros orgánicos como polianilina (PANI), en la decoloración de tintes sintéticos, en la descontaminación y limpieza de aguas residuales y de suelos, en la síntesis de fármacos orgánicos con alto rendimiento, en electrodos enzimáticos, en kits de diagnóstico e inmunoensayos enzimáticos (Arellano et al., 2013).

**Calcium Ameliorates the Tolerance of Lisianthus [*Eustoma grandiflorum*  
(Raf.) Shinn.] to Alkalinity in Irrigation Water.**

**Lucina Gómez-Pérez <sup>a</sup>, Luis Alonso Valdez-Aguilar <sup>a\*</sup>, Alberto Sandoval-  
Rangel <sup>a</sup>, Adalberto Benavides-Mendoza <sup>a</sup>, Ana María Castillo-González <sup>b</sup>.**

<sup>a</sup> Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,  
Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coah., México 25315

<sup>b</sup> Instituto de Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Carr. México-  
Texcoco Km. 36.5, Chapingo, México 56230

\* Corresponding author. Tel. +1 52 84 4110 303; fax: +1 52 84 4110 215.

E-mail address: luisalonso.valdez@uaaan.mx (L.A. Valdez-Aguilar).

**Abstract.**

Irrigation water high in alkalinity can severely compromise the growth and marketability of ornamental plants. In the present study we investigated the response of lisianthus to increased calcium (Ca) when irrigated with solutions containing high levels of bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity. Alkalinity reduced growth, however, plants with supplementary Ca at alkalinity levels from 4 to 7  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HCO}_3^-$ , exhibited improved growth and DM accumulation or were not detrimentally affected, suggesting that Ca contributes to increase the tolerance of lisianthus. Supplementary Ca did maintain a high stomatal

conductance and transpiration rate when alkalinity was at 4 meq·L<sup>-1</sup>, which explained the lower water potential in young leaves. Plants irrigated with solutions containing supplementary Ca had higher total DM, which was associated with a higher stomatal conductance, however, when conductance was higher than 0.280 cm·s<sup>-1</sup>, as in plants with no supplementary Ca, DM tended to decrease with increasing conductance. At typical Ca concentration there was a disruption on stomata functioning as stomatal conductance and transpiration rate increased, which was associated with a reduction in shoot K. Calcium ameliorated the uptake of K when alkalinity was 4 meq·L<sup>-1</sup> by allowing a less marked reduction in shoot K concentration. Chlorophyll was reduced by increasing alkalinity due to a decrease in shoot Fe, however, supplementary Ca also contributed in increasing the tolerance to alkalinity at 4 meq·L<sup>-1</sup> by sustaining a high shoot Fe concentration. Supplementary Ca increased catalase and peroxidase activities, indicating that *lisianthus* responded to the stress by enhancing the activity of these enzymes to reduce oxidative damage.

## **Introduction**

Alkalinity in soils and water affects plant production in the arable lands of the arid and semiarid regions of the world. Irrigation water of high alkalinity may cause nutritional problems in cultivated horticultural plants as chlorosis of young leaves due to the formation of iron (Fe) forms that are unavailable for plant uptake. Alkalinity may also be associated with deficiency of copper (Cu), zinc (Zn), potassium (K), and phosphorus (P) due to low solubility (FAO, 2000).

Alkalinity in water is caused mainly by carbonate ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ), which at high concentrations are detrimental for plant growth (Cartmill et al., 2007). Use of irrigation water of high alkalinity leads to increased pH of the growing medium as acidity is neutralized by  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{CO}_3^{2-}$  (Valdez-Aguilar and Reed, 2007).

High alkalinity irrigation water results in reduced growth and nutrient deficiency symptoms in young leaves, reducing plant quality and marketability, and represents a significant challenge to ornamental horticultural production systems. Lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.], a species native to the arid zones of the southern United States and northern México, is an ornamental plant of increasing demand as it gains popularity among consumers as cut flower (Halevy and Kofranek, 1984). Valdez-Aguilar et al. (2013) reported that lisianthus can tolerate high salinity irrigation water as long as sodium and chloride are not the predominant ions.

Calcium (Ca) has been reported in a number of studies as an ion that enhances plant tolerance to abiotic stress, including drought (Hassan et al., 2011), salinity (Zhu, 2001) and excess boron (Siddiqui et al., 2012), by regulating the response reactions and developmental processes (Steinhorst and Kudla, 2013). However, there is limited information on the potential role of Ca in enhancing plant tolerance to alkalinity stress. Calcium is a structural element that constitutes the middle lamellae, wall and membranes of plant cells, participates in cell division, extension and compartmentalization, and regulates the action of hormones and signals (Marschner, 1995). Supplementation with increasing Ca has been suggested to increase plant tolerance to salinity stress

(Epstein, 1998). Kaya et al. (2002) and Tuna et al. (2007) reported that increased Ca concentrations resulted in enhanced growth and yield of strawberry (*Fragaria × ananassa*) and tomato (*Solanum lycopersicon*) plants, respectively, exposed to high salinity conditions. The present study was conducted to investigate if supplementary Ca enhances the response of lisianthus to high levels of  $\text{HCO}_3^-$ -induced alkalinity.

## **Materials and methods**

### *Cultural Conditions and Plant Material.*

The experiment was conducted in a greenhouse located at Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in north México (lat. 25° 27' N, long. 101° 02' W, 1610 m above sea level). Average maximum/minimum temperature and relative humidity were 33°C/14°C, and minimum and maximum relative humidity for experiment duration averaged 77% and 64%, respectively. Average photosynthetically active radiation (*PAR*) measured at solar noon was 361  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Lisianthus cv ABC Blue plants were transplanted (22 Mar. 2013) into 40 L rigid plastic containers (10 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  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  apparent density].

### *Nutrient Solutions Application.*

Experimental units were fertigated with nutrient solutions with increasing  $\text{HCO}_3^-$ -induced alkalinity concentrations: 1, 4, 7 and 10  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$  of  $\text{HCO}_3^-$  and two concentrations of Ca: control (8  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and supplementary (11  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ ). The remainder nutrients were supplied according to Steiner's nutrient solution formulation (Steiner, 1984), including macronutrients ( $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ ): 12  $\text{NO}_3^-$ , 1  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , 7 K, 4 Mg, 2  $\text{SO}_4^{2-}$ , and micronutrients ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ): 5.3 Fe, 0.4 Zn, 2.6 Mn, 0.5 Cu, 0.2 B, and 0.2 Mo. Solution pH for solutions with 1, 4, 7 and 10  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{HCO}_3^-$  was 6.5, 7.2, 7.7 and 8.5, respectively, whereas electrical conductivity was 2, 2.3, 2.5 and 2.7  $\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , respectively. 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 (~1.0 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 d.

### *Plant Growth and Nutrient Status.*

At experiment termination, growth measurements were recorded in all the plants from each experimental unit, including shoot length (substrate to the top of the inflorescence), diameter at the base of the stem, diameter of flowers (third fully expanded flower), and number of flowers. The plants were separated into roots, stems, leaves, and flowers, washed twice with distilled water, and placed in an oven at 70°C for 72 h. Dry mass (DM) was recorded for each plant part.

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  $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HClO}_4$  and

2 mL of 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The digested samples were analyzed for nitrogen (N) with Micro-Kjeldalh procedure, while K, P, Ca, magnesium (Mg), Cu, Fe and Zn were analyzed with Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer (ICP-AES, model Liberty, VARIAN, Santa Clara, CA).

*Photosynthetic Parameters, Chlorophyll Concentration, Leaf Water Potential and Enzymatic Activity.*

Net photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate were measured (LI-COR, Inc., LI-6200, Lincoln, NE) at noon on young leaves (the third fully developed leaf from top to bottom) of 90 d-old plants. Average *PAR*, CO<sub>2</sub> concentration, and temperature were 596  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 364 ppm, and 28.9 °C, respectively. Three measurements on each leaf from one plant per experimental unit were recorded.

Photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, and a+b) and catalase and peroxidase activities were measured in young leaves as described by Jeffrey and Humphrey (1975), Masia (1998) and Kar and Mishra (1976), respectively at experiment termination. Water potential ( $\Psi_w$ ) of one young (top third of the plant) and one mature (bottom third of the plant) leaf sampled at solar noon was measured (Scholander Pressure Chamber, Soil Moisture Equipment Corp., Santa Barbara, CA) at experiment termination.

*Statistical Design.*

Three replicates of each experimental unit (container with 10 plants) were distributed in a factorial complete randomized block design with four levels of

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and two levels of Ca. Data were analyzed using ANOVA and linear, quadratic or cubic trend analysis with SAS (SAS v. 8.0, SAS Institute).

## Results

### *Plant growth.*

Plants with control Ca concentration exhibited a linear decrease in shoot length (Fig. 1A) and diameter (Table 1) whereas plants with supplemental Ca showed a quadratic response, indicating that supplementary Ca improved plant growth (length) or was not affected (diameter) even at an alkalinity of 4 meq·L<sup>-1</sup>. The number of flower buds was decreased, however, the decrease was less pronounced in plants with increased Ca as flower bud count was 12% and 34% lower when alkalinity was increased to 4 meq·L<sup>-1</sup> in Ca-supplemented and control plants, respectively (Table 1). The diameter of flowers did not exhibit a consistent tendency (Table 1), however, plants with supplementary Ca produced flower of similar or larger size than those of the control plants when alkalinity was ≤7 meq·L<sup>-1</sup>.

Total DM of plants (Fig. 1B), as well as leaf (Fig. 1C), stem (Table 1) and flower DM (Table 1), were reduced by increasing alkalinity, however, the deleterious effect of high HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> was less pronounced in plants that received supplementary Ca when alkalinity was 4 to 7 meq·L<sup>-1</sup>. Alkalinity had no effect on root DM of control plants (Fig. 1D), whereas supplementary Ca increased root biomass accumulation regardless of the alkalinity level, except when HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> was at 10 meq·L<sup>-1</sup>.



Figure 2. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) induced alkalinity in the nutrient solution on shoot length (A), total dry mass (B), leaf dry mass (C) and root dry mass (D) of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

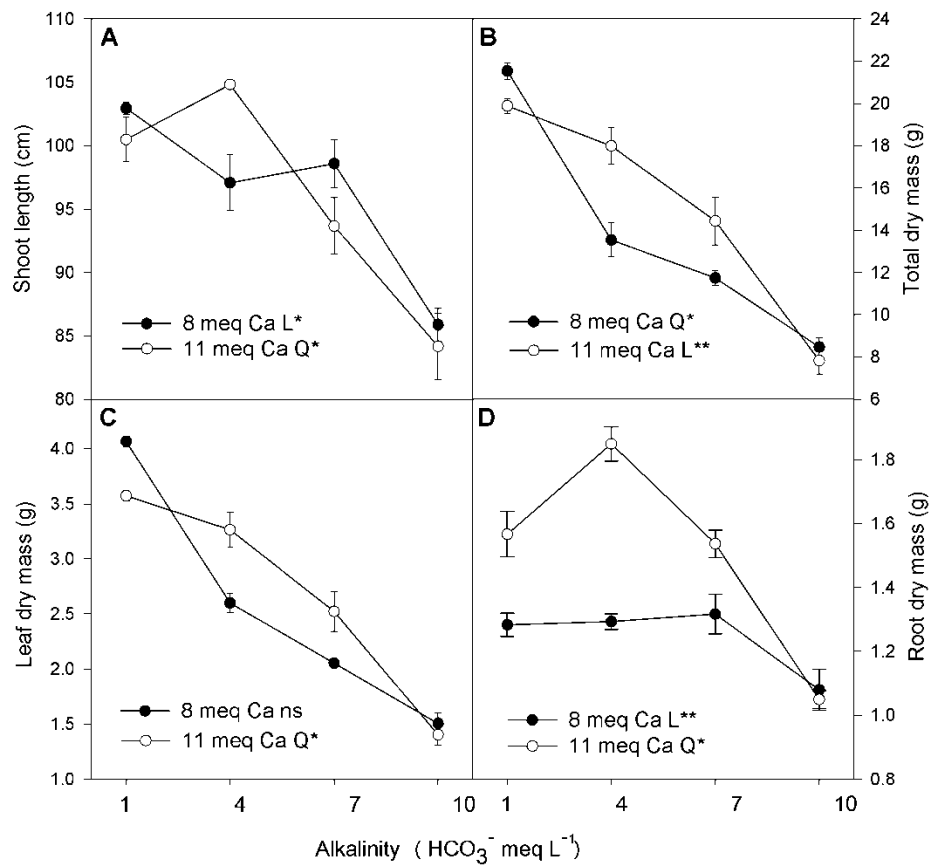


Table 1. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity in the nutrient solution on growth parameters of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

$\text{HCO}_3^-$ ( $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Stem diam		Flower buds number		Flower diam		Stem dry mass		Flower dry mass	
	(mm)				(cm)		(g)		(g)	
	Ca ( $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ )									
	8	11	8	11	8	11	8	11	8	11
1	7.07	6.94	15.3	13.8	100.9	99.0	9.25	8.53	6.93	6.22
4	6.29	6.68	10.1	12.2	91.9	98.8	5.50	7.54	4.14	5.33
7	5.79	5.87	8.08	10.9	100.5	100.4	4.66	5.69	3.71	4.68
10	4.71	4.67	6.08	6.25	95.2	88.1	3.19	3.08	2.69	2.29
Trend analysis <sup>z</sup>	L**	Q*	Q*	Q*	C*	L*	Q*	Q*	L**	L**

<sup>z</sup>L, Q, C, linear, quadratic and cubic trend

\*, \*\*, significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively

*Physiological parameters.*

Increasing alkalinity linearly reduced photosynthetic rate of lisianthus regardless of Ca concentration in the nutrient solution (Table 2). Transpiration rate and stomatal conductance were not affected by alkalinity in plants with normal Ca concentration, however, in plants with supplementary Ca, transpiration rate increased with 4 meq·L<sup>-1</sup> of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and conductance decreased with increasing concentrations of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Table 2). In control plants,  $\psi_w$  increased in young and mature leaves when exposed to the highest alkalinity (10 meq·L<sup>-1</sup>) (Table 2), however, in plants with supplementary Ca an initial decrease in  $\psi_w$  of both, young and mature leaves, was detected when exposed to 4 meq·L<sup>-1</sup> of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, which was restored when alkalinity concentration was increased to 7 and 10 meq·L<sup>-1</sup>. Increasing alkalinity was associated with a decrease in photosynthetic pigments regardless of Ca concentration (Table 3) and induced an increase in the activity of catalase (Fig. 2A) and peroxidase (Fig. 2B) at both Ca concentrations; however, enzyme activity was higher in plants that received supplementary Ca, especially peroxidase activity, at high alkalinity.

Figure 3. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity in the nutrient solution on catalase activity and peroxidase activity of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

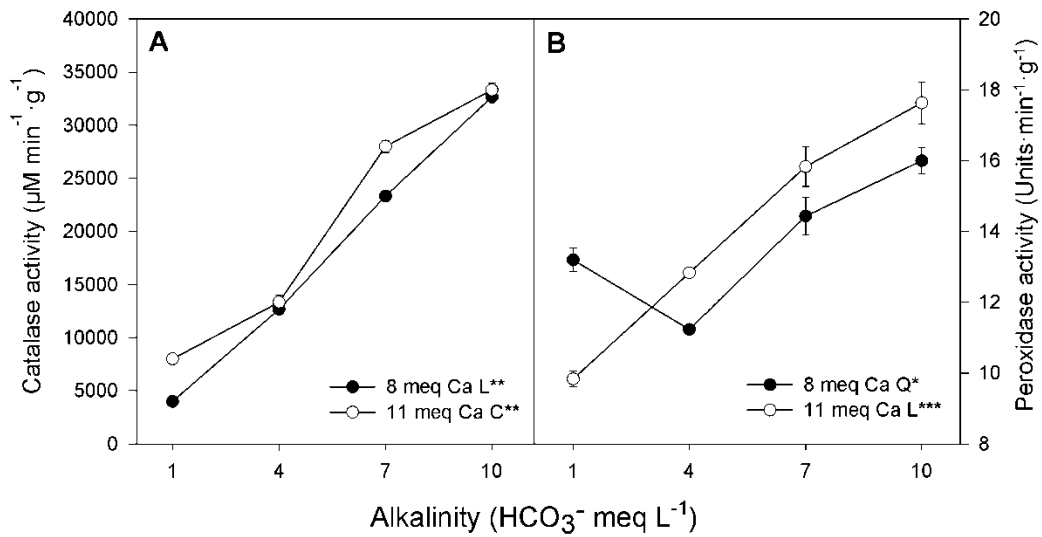


Table 2. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity in the nutrient solution on selected physiological and water potential ( $\psi_w$ ) parameters of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

$\text{HCO}_3^-$ (meq·L <sup>-1</sup> )	Photosynthetic rate		Transpiration rate		Stomatal conductance		Young leaf $\psi_w$		Mature leaf $\psi_w$	
	(μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )		(μg·cm <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> )		(cm·s <sup>-1</sup> )		(MPa)		(MPa)	
	Ca (meq·L <sup>-1</sup> )									
	8	11	8	11	8	11	8	11	8	11
1	12.3	12.3	9.45	9.09	0.263	0.270	-0.926	-0.910	-0.910	-0.873
4	12.8	10.3	9.46	9.69	0.283	0.260	-0.903	-0.933	-0.893	-0.923
7	10.3	9.63	9.96	9.31	0.28	0.243	-0.923	-0.900	-0.913	-0.890
10	8.83	7.16	9.99	9.03	0.283	0.210	-0.856	-0.873	-0.883	-0.893
Trend analysis <sup>z</sup>	L*	L*	ns	Q*	ns	L*	C**	Q*	ns	C*

<sup>z</sup>L, Q, C, linear, quadratic and cubic trend.

ns, \*, \*\*, non-significant and significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively

Table 3. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity in the nutrient solution on chlorophyll concentration in young leaves of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

$\text{HCO}_3^-$ (meq·L <sup>-1</sup> )	Chlorophyll a+b (mg·g <sup>-1</sup> )		Chlorophyll a (mg·g <sup>-1</sup> )		Chlorophyll b (mg·g <sup>-1</sup> )	
	Ca (meq·L <sup>-1</sup> )					
	8	11	8	11	8	11
1	1.24	1.21	0.48	0.47	0.77	0.75
4	1.19	1.08	0.48	0.39	0.72	0.75
7	0.94	0.99	0.33	0.36	0.61	0.64
10	0.80	0.80	0.28	0.27	0.52	0.53
Trend analysis <sup>z</sup>	L**	L*	L**	L**	L**	L*

<sup>z</sup>L, Q, C, linear, quadratic and cubic trend

\*, \*\*, significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively.

Table 4. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ )-induced alkalinity in the nutrient solution on macronutrient concentration ( $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) in shoots of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

$\text{HCO}_3^-$ ( $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Nitrogen		Phosphorus		Potassium		Calcium		Magnesium	
	Ca ( $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ )									
	8	11	8	11	8	11	8	11	8	11
1	1090	1299	31.8	33.3	516	545	36.2	39.9	117	122
4	1274	1442	31.7	32.6	422	479	32.4	36.1	115	112
7	1333	1165	34.3	29.7	413	385	29.0	28.3	102	93
10	1098	956	27.6	24.7	343	342	26.7	25.2	100	82
Trend analysis <sup>z</sup>	Q*	ns	Ns	ns	L*	L**	L**	L*	ns	ns

<sup>z</sup>L, Q, linear, quadratic trend

ns, \*, \*\*, no significant and significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively

*Nutrient status.*

In both, control and plants with supplementary Ca, increasing alkalinity caused a decrease in shoot K, Ca (Table 4), Zn and Fe (Table 5) concentration, whereas shoot N was affected only in control plants (Table 4). Plants receiving supplementary Ca had a higher concentration of N, K, Ca (Table 4) and Fe (Table 5) when alkalinity of the nutrient solution was 4 meq·L<sup>-1</sup>.

Table 5. Effect of calcium (Ca) concentration and bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-induced alkalinity in the nutrient solution on micronutrient concentration (µg·g<sup>-1</sup>) in shoots of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] cv. ABC Blue at experiment termination.

HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (meq·L <sup>-1</sup> )	Zinc		Copper		Iron	
	Ca (meq·L <sup>-1</sup> )					
	8	11	8	11	8	11
1	20.8	28.9	7.96	4.48	54.1	55.7
4	17.3	18.3	5.42	5.20	41.8	51.1
7	20.9	12.9	4.84	6.98	47.5	35.9
10	11.2	11.6	5.74	5.46	33.5	30.2
Trend analysis <sup>z</sup>	L*	L*	ns	Ns	L*	L**

<sup>z</sup>L, linear trend

ns, \*, \*\*, no significant and significant at  $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ , respectively



## Discussion

In the present study, alkalinity in irrigation water reduced the growth of lisianthus, however, plants supplemented with an increased concentration of Ca at alkalinity levels from 4 to 7 meq·L<sup>-1</sup> of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exhibited improved growth and DM accumulation, or were not detrimentally affected, demonstrating that Ca contributes to the increase of the tolerance of lisianthus to alkalinity. Alkalinity levels from 4 to 7 meq·L<sup>-1</sup> of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> have been previously demonstrated to be detrimental to several ornamental species, including roses (*Rosa* sp. L.), chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), ivy geranium [*Pelargonium peltatum* (L.) L'H'er. ex Ait. ], and some cultivars of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (Valdez-Aguilar and Reed, 2007).

Photosynthetic rate decreased in plants exposed to increased alkalinity; nonetheless, supplementary Ca did not ameliorate plant response. Supplementary Ca did maintain a high stomatal conductance and transpiration rate when alkalinity was at 4 meq·L<sup>-1</sup>, which would explain the lower  $\psi_w$  in young leaves. In plants irrigated with solutions containing supplementary Ca, a higher total DM was associated with a higher stomatal conductance [total DM = 202(stomatal conductance) - 34.6;  $R^2=0.999$ ], however, when conductance was higher than 0.280 cm·s<sup>-1</sup>, as in plants with no supplemental Ca, DM accumulation tended to decrease [total DM = - 535(stomatal conductance) + 162,  $R^2=0.856$ ].

Our results show that alkalinity is associated with plant water relations by increasing  $\psi_w$  in young leaves, however, when 8 meq·L<sup>-1</sup> of Ca was provided to the plants, there was a disruption on stomata functioning as plants showed an

increase in stomatal conductance and transpiration rate that lead to DM reduction. The decline in functioning of the stomatal apparatus at high alkalinity was associated with a reduction in shoot K, an ion directly involved in stomata regulation (Marschner, 1995). In plants supplemented with higher Ca, a decrease in shoot K was also detected, however, Ca ameliorated the uptake of K when alkalinity was  $4 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$  by buffering the reduction in shoot K and Ca. Probably, extracellular Ca may have increased K by decreasing K loss that results from the inhibition of the K outwardly rectified channels (Murata et al., 2000). Combined, the less affected reduction in shoot K and Ca (Atkinson et al., 1990) at  $4 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$  of alkalinity when supplementary Ca was added, may have interacted in the regulation of stomatal conductance, and thus, in plant growth.

Chlorophyll concentration is reported to decrease with increasing alkalinity, which has been associated with a decrease in Fe concentration (Roosta, 2011); these findings were corroborated in our experiment. The decline in Fe in the shoot may have been caused by the high pH caused by alkalinity, which renders insoluble forms that plants are unable to uptake (De la Guardia y Alcántara, 2002). In the present study, supplementary Ca contributed to increase the plant tolerance to alkalinity at  $4 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$  by maintaining a high shoot Fe concentration, and a less affected chlorophyll b concentration. Similar results have been reported in white lupine (*Lupinus albus* L.) (Pissaloux et al., 1995). In the present study, chlorophyll b seems to be of greater importance for lisianthus as its concentration tended to be up to 100% higher than that of chlorophyll a.

The lower decrease in shoot N, K, Ca and Fe concentration under high alkalinity ( $4 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$ ) may be due to the maintenance of membrane integrity

when supplementary Ca was supplied. Tuna et al. (2007) and Siddiqui et al. (2012) reported similar results in tomato and radish plants were exposed to high salinity and boron, respectively, indicating that the supplementary Ca reduced the electrolytic leakage through cell membranes. The sustaining of membrane integrity by Ca may have permitted the normal functioning of channel and carrier proteins, and other enzymes such as the Fe-reductase, which would maintain or ameliorate nutrient acquisition under alkalinity stress.

Tolerance to abiotic stress in plants has been connected with the production of reactive oxygen species (ROS) that cause lipid peroxidation in cell membranes and DNA and protein damage (Gill and Tuteja, 2010). In our study, increasing alkalinity caused an increase in catalase and peroxidase activities, indicating that lisianthus responded to the stress by enhancing the activity of such enzymes to reduce the oxidative damage caused by ROS. Nonetheless, supplementary Ca was associated with a higher activity of catalase and peroxidase, probably reflecting its role as a signaling messenger (Reddy and Reddy, 2004; Schmitz-Eiberger et al., 2002) under stressful conditions, and providing a complementary mechanism for the tolerance of lisianthus to high alkalinity.

In conclusion, in the present study, supplementary Ca enhanced of the tolerance of lisianthus to moderate levels of alkalinity in water ( $4 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$ ) by maintain a) an adequate stomatal conductance, b) an adequate acquisition of N, K, Ca and Fe, and c) reducing lipid peroxidation by enhancing the activity of antioxidant enzymes such as peroxidase and catalase.

## Literature cited

- Atkinson, C.J., T.A. Mansfield, and W.J. Davies. 1990. Does calcium in xylem sap regulate stomatal conductance?. *New Phytol.* 116:19–27.
- 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. *J. Plant Nutr.* 30:1517–1540.
- De la Guardia, M.D. and E. Alcántara. 2002. Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. *J. Plant Nutr.* 25:1021–1032.
- Epstein, E. 1998. How calcium enhances plant salt tolerance. *Science* 40:1906–1907.
- FAO. 2000. Manual on integrated soil management and conservation practices. In: *FAO Land and Water Bulletin No. 8*. FAO, Rome. Italy.
- Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48:909–930.
- Halevy, A. and A. Kofranek, A. 1984. Evaluation of lisianthus as a new flower crop. *HortScience* 19:845–847.
- Hassan, Z. and M.G.M. Aarts. 2011. Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants. *Environ. Exp. Bot.* 72:53–63.

- 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 Physiol*, 57, 315–319.
- Kaya, C., H. Kirnak, D. Higgs, and K. Saltali. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Sci. Hort.* 93:65–74.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press, London.
- Masia, A. 1998. Superoxide dismutase and catalase activities in apple fruit during ripening and post-harvest and special reference to ethylene. *Physiol. Plant.* 104:668–672.
- Murata, Y., S. Katsura, I. Obi, and T. Kakutani, T. 2000. Alterations in Ca<sup>2+</sup> binding on plasma membrane after adaptation to salt stress of tobacco cells in suspension. *Plant Cell Physiol.* 41:1286–1292.
- Pissaloux, A., P. Morard, and G. Bertoni. 1995. Alkalinity-bicarbonate-calcium effects on iron chlorosis in white lupine in soilless culture. *Developments Plant Soil Sci.* 59:127–133.
- Reddy, V.S. and A.S.N. Reddy. 2004. Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry* 65:1745–1776.
- Roosta, H.R. 2011. Interaction between water alkalinity and nutrient solution pH on the vegetative growth, chlorophyll fluorescence and leaf magnesium,

- iron, manganese, and zinc concentrations in lettuce. *J. Plant Nutr.* 34:717–731.
- Schmitz, E.M., R. Haefs, and G. Noga. 2002. Calcium deficiency-Influence on the antioxidative defense system in tomato plants. *J. Plant Physiol.* 159:733–742.
- Siddiqui, M.H., M.H. Al-Whaibi, A.M. Sakran, H.M. Ali, M.O. Basalah, M. Faisal, A. Alatar, and A.A. Al-Amri. 2013. Calcium-Induced amelioration of boron toxicity in radish. *J. Plant Growth Regul.* 32:61–71.
- Steiner, A.A. 1984. The universal nutrient solution. *Proc. 6<sup>th</sup> Int. Congr. Soilless Cult.* 633-649.
- Steinhorst, L. and J. Kudla. 2013. Calcium and reactive oxygen species rule the waves of signaling. *Plant Physiol.* 163:471–485.
- Tuna, A.L., C. Kaya, M. Ashraf, H. Altunlu, I. Yokas, and B. Yagmur. 2007. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 59:173–178.
- Valdez-Aguilar, L.A., C.M. Grieve, and J. Poss. 2013. Response of lisianthus to irrigation with saline water: plant growth. *J. Plant Nutr.* 36:1605–1614.
- Valdez-Aguilar, L.A and D.Wm. Reed. 2007. Response of selected greenhouse ornamental plants to alkalinity in irrigation water. *J. Plant Nutr.* 30:441–452.
- Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci.* 6:66–71.

## CONCLUSIONES GENERALES

El lisianthus mostró un aumento en la tolerancia a la alcalinidad a niveles moderados, cuando se aportaron concentraciones suplementarias de Ca en la solución nutritiva.

El aumento en la tolerancia estuvo asociado con un mantenimiento del estado hídrico de las hojas jóvenes, mantuvo una conductancia estomática adecuada, una absorción adecuada de N, K, Ca y Fe en la planta, así como en un aumento más pronunciado en la actividad de la catalasa y peroxidasa.

El lisianthus se puede cultivar en condiciones moderadas de alcalinidad, lo cual permitiría producir esta planta en regiones que cuentan con agua de baja calidad.

## 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.
- Alcántara, E., Romera, F.J., Cañete, M., De la Guardia M.D. 2000. Effects of bicarbonate and iron supply on Fe (III) reducing capacity of root and leaf chlorosis of the susceptible peach rootstock 'Nemaguard'. *Journal of Plant Nutrition*. 23:1607-1617.
- 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.
- Alloush, G.A., Le Bot J., Sanders F.E., Kirkby, E.A. 1990. Mineral nutrition of chickpea plants supplied with  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$  -N. I. Ionic balance in relation to iron stress. *Journal of Plant Nutrition*. 13: 1575-1590.
- Álvarez, F.A., Abadía, J., Abadía, A. 2007. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. pp: 85-101. In: L. L.
- Arellano, B.J., Ilich, Z.S., Salazar, C.M., Rodríguez, H.I. 2013. Actividad enzimática y patrones electroforéticos de peroxidasa de raíces de



*Brassica napus* y *Raphanus sativus* y frutos de *Sechium edule* y *Cucumis sativus*. REBIOL. 33:1-10.

Azcon, J., Talon, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Capítulo 29: fisiología de las plantas y el estrés. Segunda Edición. Interamericana-McGraw-Hill. Madrid, pp. 577-597.

Bailey, D.A. 1996. Alkalinity, pH, and acidification. In Water, media, and nutrition for greenhouse crops, ed. D.W. Reed, 62-92. Batavia, Illinois: Ball Publishing.

Barber, S.A. 1995. Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. 2nd edition. John Wiley and Sons, New York.

Benavides, M.A. "Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas", Departamento de Horticultura/UAAAN, 2002.

Bertoni, G.M., Pissaloux, A., Morad, P., Sayag D.R. 1992. Bicarbonate pH relationship with iron chlorosis in white lupine. Journal of Plant Nutrition. 15:1509-1518.

Bialczyk, J., Lechowski, Z., Libik, A. 1994. Growth of tomato seedlings under different HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration in the medium. Journal of Plant Nutrition. 17:801-816.

Birkeland, P.W. 1984. Soils and geomorphology. Oxford University Press. New York.

Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 223 p.

Brady, N.C. 1990. The nature and properties of soils. MacMillan. New York

- Buol, S.W., Hole, F.D., McCracken R.J. 1981. Génesis y clasificación de suelos. Ed. Trillas, Mexico.
- Bush, D.S. 1995. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.* 46:95-122.
- Call, E.R. 1999. Arizona Master Gardener Manual. College of Agriculture. The University of Arizona. Tucson, Az. USA.
- 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.
- Cartmill, A.D., Alarcón, A., Valdez, A.L.A. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of *Rosa multiflora* cv. Burr to bicarbonate in irrigation water. *J. Plant Nutr.* 30, 1517-1540.
- Cartmill, A.D., Valdez A.L.A., Bryan D.L., Alarcon A. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water. *Scientia Horticulturae* 115: 275-284.
- Chunhui, M., Kenji T., Akihiro, I., Fumio T., Yuanwen, T., Jong-Pil, CH. 2006. Responses of Two Asian Pear Rootstocks (*Pyrus* spp.) to Fe-deficiency Chlorosis Induced by Addition of Bicarbonate to Nutrient Solution. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 75:219-223.
- De la Guardia, M.D., Alcántara, E. 2002. Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. *Journal of Plant Nutrition.* 25:1021-1032.

- Fassbender, H.W. y E. Bornemisza. 1987. Química de suelos con énfasis en América Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.
- Fernández, F.M., Álvarez, G.C.E., García, V., Báez, J. 1986. The effect of chloride and bicarbonate levels in irrigation water on nutrient content, production and quality of cut roses 'Mercedes'. *Scientia Horticulturae*. 29:373-385.
- FAO. 2000. Manual on integrated soil management and conservation practices. In: FAO Land and Water Bulletin No. 8. FAO, Roma. Italy.
- Kabata, A., Pendias, H. 1984. Trace elements in soils and plants. CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida.
- Kaya, C., Kirnak, H., Higgs, D., Saltali, K. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Scientia Horticulturae* 93: 65-74.
- Kramer, L.L., Peterson, J.C. 1990. Influences of water pH, alkalinity, and acid additions on the growth and nutrient relationships in *Chrysanthemum morifolium* 'Bright Golden Anne'. *Journal of Plant Nutrition*. 13:169-186.
- Lee, J.A., Woolhouse H.W. 1969. A comparative study of bicarbonate inhibitions of root growth in calcicole and calcifuge grasses. *New Phytologist*. 68:1-11.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Vol 1. 2nd ed. Academic Press, New York. 477 p.
- Lindsay, W.L., Thorpe D.W. 1954. Bicarbonate and oxygen as related to chlorosis. *Soil Science*. 77:271-279.

- Lindsay, W.L. 1979. Chemical equilibria in soils. The Blackburn Press, Caldwell, NJ.
- Liu, J., Shi D.C. 2010. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica* 48: 127-134.
- Loyola, N., Vargas, J. 2005. Comparación de los efectos de preservantes en postcosecha de lisianthus (*Eustoma grandiflorum*). *Ago. Sur.* 33:9-19.
- Lunt, O.R., Kohl, H.C., Kofranek, A.M. 1956. The effect of bicarbonate and other constituents of irrigation water on the growth of azaleas. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science.* 68:537-544.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd ed. Academic Press, Inc., London.
- Mathews, C.K., Van, H.K.E., Ahern, K.G. 2002. Bioquímica. 3º Ed. Addison Wesley (Ed) Madrid.
- Matkin, O.A., Petersen F.H. 1971. Why and how to acidify irrigation water. *American Nurserymen.* 133:14-73.
- McCallister, D.L., Wiese, R.A., Soleman, N.J. 1989. Effect of potassium salts on alleviation of lime-induced chlorosis in soybean. *Journal of Plant Nutrition.* 12:1153-1174.
- Melgares, A.J. 1996. El cultivo de lisianthus. Primera parte. *Horticultura* 113: 13-16.
- Mier, D., Pivonia, S., Levita, R., Dori, I., Ganot, L., Meir, S., Salim, S., Resnick, N., Wininger, S., Shlomo, E., Koltai, H. 2010. Application of mycorrhizae

- to ornamental horticultural crops: lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) as a test case. Spanish Journal of Agricultural Research 8:5-10.
- Mikkelsen, R. 2010. Soil and fertilizer. Magnesium. Better Crops 94:26-28.
- Miller, G.W, Pushnik, J.C., Welkie, G.W. 1984. Iron chlorosis, a world wide problem. The relation of chlorophyll biosynthesis to iron. J. Plant Nutr. 7:1-22.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7:405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Breusegem, V.F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends Plant Sci. 10: 490-498
- Namesny, A. 2005. De lisianthus a capsicum: mejora genética en ornamentales. Horticultura Internacional 47:34-37.
- Nikolic, M., Kastori R. 2000. Effect of bicarbonate and Fe supply on Fe nutrition of grapevine. Journal of Plant Nutrition 23:1619-1627.
- Oren, S.M., Shaked, L.S., Nissim A.L., Ron E.1999. Anthocyanin pigmentation of lisianthus flower petals. Plant Science 140:81-86.
- Ortega, T. 1978. Química de suelos. Universidad Autónoma Chapingo.
- Otani, T., Ae, N. 1996. Phosphorus (P) uptake mechanisms of crops grown in soils with low P status. I. Screening of crops for efficient P uptake. Soil Sci. Plant Nutr 42: 155-163.
- Pardo, J.M., Cubero, B., Leidi, E.O., Quintero, F.J. 2006. Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. Journal of Experimental Botany. 57: 1181-1199.

- Pearce, R.C., Li, Y., Bush, L.P. 1999a. Calcium and bicarbonate effects on the growth and nutrient uptake of burley tobacco seedlings: hydroponic culture. *Journal of Plant Nutrition* 22:1069-1078.
- Pearce, R.C., Li, Y., Bush, L.P. 1999b. Calcium and bicarbonate effects on the growth and nutrient uptake of burley tobacco seedlings: float system. *Journal of Plant Nutrition* 22:1079-1090.
- Petersen, F.H. 1996. Water testing and interpretation. p. 31-49. In: Reed, D.Wm. *Water, media and nutrition*. Ball Publishing, Batavia, IL.
- Pettigrew, W. T. 2008. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiologia Plantarum* 133: 670-681.
- Romeis, T., Ludwig, A.A., Martin, R., Jones J.D.G. 2001. Calciumdependent kinases play an essential role in a plant defense response. *EMBO J.* 20: 5556-5567.
- Schmidt, W. 2003. Iron homeostasis in plants: sensing and signaling pathways. *J. Plant Nutr.* 26: 2211-2230.
- Salisbury, F., Ross, C. 1994. *Fisiología Vegetal*. Cuarta edición. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. México, D.F. pp. 3-177.
- Sanders, D., Pelloux, J., Brownlee, C., Harper, J.F. 2002. Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell* S401-S417.
- Shimozawa, N. 2007. Molecular and clinical aspects of peroxisomal diseases. *J Inherit Metab Dis.* 30:193-197.
- Silveira, J., Lima, J., Cavalcanti, F., Maia, J., Viegas, R. 2005. Salt induce oxidative response in plants: Damage oy protection? En: *Estresses*

- ambientais: Danos e benefícios em plantas. Ed. Custodio R., Araújo, E., Gomes, L., Cavalcante U. p. 116-117.
- Tang, C., Turner, N.C. 1999. The influence of alkalinity and water stress on the stomatal conductance, photosynthetic rate and growth of *Lupinus angustifolius* L. and *Lupinus pilosus* Murr. Australian Journal of Experimental Agriculture 39:457-464.
- Terry, N., Abadía, J. 1986. Function of iron in chloroplasts. J. Plant Nutr. 9: 609-646.
- Terry, N., Zayed, A.M. 1995. Physiology and biochemistry of leaves under iron deficiency. pp. 283-294 In: J. Abadía (ed.), Iron Nutrition in Soils and Plants, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Tremblay, N., Masson, J., Gosselin, A. 1989. Influence of pH and bicarbonate content of nutrient solutions on characteristics of saturated medium extract and mineral composition of celery seedlings. Acta Horticulturae 2238:119-125
- Uhm, K.H., Ahn, I.P., Kim, S., Lee, Y.H. 2002. Calcium/ Calmodulindependent signaling for penetration development in *Colletotrichum gloeosporoides*. Biochem. Cell Biol. 93:82-87.
- Valdez, A.L.A., Reed, D.Wm. 2007. Response of selected greenhouse ornamental plants to alkalinity in irrigation water. J. Plant Nutr. 30:441-452.
- Valdez, A.L.A., Grieve, C. M., Poss, J. y Mellano, M.A. 2009. Hypersensitivity of *Ranunculus asiaticus* to salinity and alkalinity in irrigation water in sand cultures. HortScience 44:138-144.

- Valdez, A.L.A., Grieve, C.M., James, A., 2013. Response of lisanthus to irrigation with saline water: plant growth. *Journal of Plant Nutrition* 36:1605-1614.
- Wanders, R.J., Waterham, H.R. 2006. Peroxisomal disorders: the single peroxisomal enzyme deficiencies. *Biochim Biophys Acta* 1763:1707-1720.
- 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 Soil Science and Plant Analysis*. 27:959-976.
- White, P.J. 2000. Calcium channels in higher plants. *Biochemical et Biophysical Acta* 1465, 171-189.
- White, P.J., Davenport, R.J. 2002. The voltage- independent cation channel in the plasma membrane of wheat roots is permeable to divalent cations and be involved in cytosolic  $Ca^{2+}$  homeostasis. *Plant Physiol.* 130:1386-1395.
- White, P.J. 2001. The pathways of calcium movement to the xylem. *J. Expl. Bot.* 52: 891-899.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schuraudner, M., Langebartels, C. Van, M.M., Inzé, D., Van C.W., 1997. Catalase is a sink for  $H_2O_2$  and is indispensable for stress defense in C3 plants. *EMBO J.* 16: 4806-4816.
- Yang, X., Römheld, V., Marschner H. 1993. Effect of bicarbonate and root zone temperature on uptake of Zn, Fe, Mn and Cu by different rice cultivars



(*Oryza sativa* L.) grown in calcareous soil. *Plant and Soil*. 155/156:441-444.

Yang, T., Poovaiah, B.W. 2003. Calcium/calmodulin- mediated signal network in plants. *Trends Plant Sci*. 8:505-512.