

Artículo

Una nueva tecnología de vectorización de calcio: concentración y distribución de Ca y eficiencia agronómica en plantas de pimiento

Eloy Navarro-León ^{1,*} , Francisco Javier López-Moreno ² , Miguel Angel Fernández ³, Juan Jesús Maldonado ³, Jose Yáñez ³, Begoña Blasco ¹ and Juan Manuel Ruiz ¹

- 1 Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, España; bblasco@ugr.es (B.B.); jmrs@ugr.es (J.M.R.)
 - 2 IFAPA, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 18004 Granada, España; franciscoj.lopez.moreno@juntadeandalucia.es
 - 3 Brandt Europe S.L., Carmona, 41410 Sevilla, España; miguel.Fernandez@brandt.co (M.A.F.); jesus.maldonado@brandt.co (J.J.M.); jose.yanez@brandt.co (J.Y.)
- * Correspondencia: enleon@ugr.es

Resumen: El calcio (Ca) es un macronutriente importante para las plantas, aunque su baja movilidad a través del floema dificulta su translocación a los tejidos en crecimiento, incluidos los frutos. La fisiopatía “blossom end rot” (BER) o podredumbre apical ocurre principalmente en frutos y está asociada al estrés hídrico, y especialmente a bajos niveles de Ca, lo que tiene un efecto muy negativo en la producción de muchos cultivos. Actualmente, a través del proceso de vectorización, es posible aumentar el transporte de elementos inmóviles a los frutos. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca, que contiene Ca con un vector (polialcoholes), suministrado por la empresa BRANDT EUROPE S.L. (Carmona, España), sobre la acumulación de Ca y la producción y calidad de los frutos de pimiento, tanto en cosecha como en postcosecha. Se cultivaron plantas de pimiento en un invernadero sombreado y se les suministró BRANDT® MANNI-PLEX® Ca y se analizaron parámetros relacionados con la biomasa, la producción y la calidad de los frutos. Los resultados mostraron que el producto incrementó la biomasa de los brotes, el rendimiento fotosintético, la acumulación de Ca y la calidad de los frutos de pimiento tanto en cosecha como en postcosecha, al tiempo que redujo la incidencia de fisiopatías por Ca en un 70%. Por tanto, este estudio demuestra la eficacia de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca en un cultivo con alta incidencia de fisiopatías por Ca, como es el pimiento.

Palabras clave: antioxidantes; blossom end rot; calcio; pimiento; pectina; vectorización



Citación: Navarro-León, E.; López-Moreno, F.J.; Fernández, M.A.; Maldonado, J.J.; Yáñez, J.; Blasco, B.; Ruiz, J.M. Una Nueva Tecnología de Vectorización del Calcio: Concentración y Distribución de Ca y Eficiencia Agronómica en Plantas de Pimiento. *Agronomy* **2022**, *12*, 410. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020410>

Editor académico: Andrea Ertani

Recibido: 19 de enero de 2022

Aceptada: 3 de febrero de 2022

Publicado: 6 febrero 2022

Nota del editor: MDPI se mantiene neutral con respecto a las reclamaciones jurisdiccionales en los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.



Copyright: © 2022 por los autores. Licenciario MDPI, Basilea, Suiza. Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introducción

Durante 150 años, los científicos han estudiado la nutrición de las plantas para comprender los procesos de absorción, acumulación, transporte y funcionalidad de los distintos elementos químicos necesarios para su crecimiento. A partir de estos estudios, se ha obtenido mucha información sobre el crecimiento y la composición de las plantas en respuesta a los diferentes medios de cultivo, los programas de fertilización a utilizar en las diferentes zonas agrícolas, así como las diferentes concentraciones de estos elementos en las soluciones nutritivas para diferentes especies vegetales [1].

Un macronutriente importante para las plantas es el calcio (Ca), que es necesario para la integridad y funcionalidad de la pared y las membranas celulares y, además, interviene como segundo mensajero en el funcionamiento de algunas hormonas y en las respuestas medioambientales. La mayor parte del Ca está presente en las paredes y membranas celulares, así como en el interior de los orgánulos celulares, especialmente en la vacuola. Otra característica del Ca es su inmovilidad en el floema, lo que implica que hay una translocación muy limitada de Ca desde las hojas maduras de las plantas (órganos fuente) a las hojas jóvenes, brotes y frutos (órganos sumidero) [1,2].

Las funciones del Ca²⁺ como elemento estructural están relacionadas principalmente con el hecho de que confiere rigidez y estabilización al sistema de la pared celular. Durante la biosíntesis de la pared celular, las pectinas son secretadas por las células en forma de ésteres metílicos, que posteriormente son desesterificados por la pectina metilesterasa,

proporcionando así grupos carboxilo que se unen al Ca^{2+} mediante enlaces covalentes e iónicos. Las asociaciones del Ca^{2+} con las pectinas de la pared celular protegen de la degradación de esta estructura por la acción de las enzimas poligalacturonasas. Además, el Ca^{2+} estabiliza las membranas celulares mediante la formación de puentes con grupos fosfato y carboxilo entre lípidos y proteínas [3].

Además de estas funciones estructurales, el Ca se define como un mensajero secundario esencial en la señalización y generación de respuestas fisiológicas al estrés, tanto abiótico como biótico, a través de incrementos específicos en su concentración citoplasmática. Como tal, el Ca también ha sido definido recientemente como una señal esencial en la detección y en la adaptación de las plantas a variaciones en la disponibilidad de nutrientes esenciales como N, K, Fe y Mg, a través de la activación de diversas proteínas quinasas dependientes de Ca [1,2].

Como se ha indicado anteriormente, la presencia de Ca en el floema se produce a concentraciones muy bajas, por lo que su translocación a las diferentes partes del brote en crecimiento, como hoja y frutos, dependerá de la tasa de transpiración o de la presión en la raíz para aportar Ca a través del xilema. Para órganos con bajas tasas de transpiración, como los frutos en desarrollo, el proceso de presión radicular es insuficiente, apareciendo en muchos casos síntomas de deficiencia de Ca [4]. La deficiencia de Ca es común en frutas hortícolas como tomates, pimientos y calabacines, causando áreas podridas y necróticas en el extremo distal de la fruta, una fisiopatía llamada "blossom end rot (BER)" [5].

La BER es un trastorno fisiológico que se produce principalmente en los frutos y está asociado al estrés hídrico, y especialmente a la existencia de niveles bajos de Ca, lo que tiene un efecto muy negativo en la producción de muchos cultivos. Los síntomas de este trastorno pueden llegar a cubrir la mitad de la superficie de los frutos y comienzan con el oscurecimiento de los tejidos que se produce al morir las células. Así, la aparición de la BER es el resultado de la ruptura de la membrana plasmática y del reblandecimiento irregular de las paredes celulares, debido a procesos de desintegración de las cadenas de pectina por la acción de enzimas específicas de degradación, todo ello causado por una deficiencia de Ca en los frutos [5].

Una de las estrategias utilizadas con frecuencia para mejorar la concentración de nutrientes en las partes superiores de la planta es la aplicación de estos nutrientes por vía foliar combinada con programas estándar de fertilización radicular [6]. Sin embargo, este método no siempre es viable para el Ca debido a su limitado transporte a través del floema y su mínima distribución hacia los tejidos de la planta en crecimiento (p.ej., frutos) [7,8]. Actualmente, mediante el proceso de vectorización, es posible aumentar la absorción foliar, la concentración y la distribución de estos elementos con baja movilidad en el floema a través de diferentes órganos de los brotes de la planta, incluido el fruto [9-11].

El mecanismo de transporte de los agroquímicos a través de las membranas es un factor clave tanto para la absorción como para la distribución de estos compuestos a larga distancia en las plantas [10,11]. De ahí que la vectorización de compuestos que presentan dificultades de translocación en plantas facilite y controle su distribución gracias a este vector. En general, los vectores más utilizados en este proceso son los aminoácidos (glutamato, glutamina, lisina, glicina y alanina), los ácidos carboxílicos (citrato, malato, oxalato, acético y glucurónico), los ácidos fenólicos (salicílico), los azúcares (glucosa y ramnosa) y los polialcoholes o polioles (sorbitol, manitol y xilitol) [9-11].

Aunque estos vectores han sido más utilizados en la vectorización de pesticidas con gran éxito, en otros estudios facilitan la absorción y distribución de elementos iónicos inmóviles en las plantas, como Ca^{2+} , Fe^{2+} , y BO_3^- [12-14]. En el caso del Ca, la aplicación foliar de Ca quelatado con ácidos carboxílicos (CALHARD®) incrementó este nutriente y la concentración de pectinas y ácido ascórbico en fresas [12]. Para micronutrientes como el B y el Fe, se comprobó que la aplicación combinada de estos micronutrientes con polialcoholes (sorbitol y manitol) y el aminoácido glutamato, respectivamente, mejoraba la movilidad en el floema y la concentración de estos micronutrientes en frutos [13,14].

El mecanismo exacto de este tipo de compuestos en la vectorización no se conoce en profundidad. Sin embargo, se ha observado que los polioles pueden disolver nutrientes minerales y actuar como agentes reductores y estabilizadores que evitan la agregación de

partículas [15]. Además, compuestos vectorizantes como el manitol y el perseitol pueden ser transportados a través del floema mediante transportadores específicos que llevan nutrientes inmóviles y facilitan su suministro a órganos sumidero como los frutos.

Asimismo, las membranas plasmáticas son permeables al manitol, por lo que estos compuestos pueden favorecer la entrada de nutrientes minerales en las células [16,17].

La empresa BRANDT® S.L. (Carmona, España) ha desarrollado un producto de vectorización denominado MANNI-PLEX® Ca. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca, que contiene Ca con un vector (polialcoholes). En concreto, este estudio evalúa su eficacia en la distribución y acumulación de Ca en las diferentes partes de la planta y analiza el efecto sobre la producción y calidad de los frutos de pimiento, tanto en cosecha como en postcosecha.

2. Materiales y métodos

2.1. Localización del experimento

El estudio se llevó a cabo en un invernadero con cubierta de malla de 960 m², construido en el Centro IFAPA "Camino de Purchil" de Granada (Latitud: 37°10' N; Longitud: 3°38' W; Altitud: 600 m). El invernadero es una estructura metálica multimodular de tipo cubierta a dos aguas. La cubierta de la estructura del invernadero se realizó con una malla monofilamento natural blanco-negro con hilos de 6 x 9 cm⁻². Las bandas de la estructura del invernadero se realizaron con una malla con hilos negros de 10 x 16 cm⁻² en todo el perímetro y rafia plastificada impermeable al aire. El suelo se cubrió con polifibra negra para evitar la aparición de malas hierbas. Las condiciones microclimáticas durante el experimento se muestran en la Tabla S1.

2.2. Descripción del material vegetal y tratamientos

Las plantas utilizadas en este estudio fueron plantas de pimiento (*Capsicum annum* cv. Alicum). Se trata de un cultivar italiano dulce de color rojo. Tiene frutos en forma de cono, de 22 cm de largo y 4 ó 5 cm de ancho. Este cultivar fue desarrollado por la empresa Fitó (Barcelona, España). El experimento se llevó a cabo durante los meses de mayo a julio de 2021. Las semillas de pimiento se sembraron en bandejas planas (tamaño de celda 3 cm x 3 cm x 10 cm, con 100 cajas por bandeja) rellenas de una mezcla de turba y perlita al 50% (v/v), y se mantuvieron en vivero durante 25 días (HortoPlan S.L.; Motril, Granada). Después, a mediados de mayo, las plántulas se trasplantaron al invernadero sombreado. Las plantas crecieron en el suelo a una densidad de 2,2 plantas/m² en líneas emparejadas con una distancia de 0,5 m entre líneas y 1,30 m entre líneas adyacentes no emparejadas, y 0,5 m entre plantas. Las plantas se enrejaron con hilo de nailon y se recortaron a tres tallos.

La fertilización se realizó por fertirrigación. La composición de la solución nutritiva (mmol L⁻¹) fue: 15 NO₃⁻; 1,8 H₂PO₄²⁻; 2 SO₄²⁻; 0,5 HCO₃⁻; 0,5 NH₄⁺; 5,5 K⁺; 5 Ca²⁺; 2 Mg²⁺. Los valores de CE se mantuvieron en torno a 2 mS cm⁻¹ y el pH en 6. La solución madre se preparó en cuatro tanques de 1000 L cada uno, donde los fertilizantes se concentraron 100 veces para evitar tener que recargar los tanques con mucha frecuencia. La solución nutritiva se inyectó con un programador de riego por inyección de fertilizante a demanda. Las dosis de fertilizante aplicadas se calcularon en función de las características de cada fórmula comercial, los aportes de agua de riego y las necesidades del cultivo [18]. El pH y la conductividad eléctrica de la solución nutritiva, así como la proporción de los distintos fertilizantes, se ajustaron automáticamente según los valores preestablecidos. El pH de la solución nutritiva se medía diariamente y se corregía según las necesidades con 2 mM de ácido fosfórico para mantener el pH en 6.

El riego en todos los tratamientos fue por goteo automatizado. Se instalaron dos ramales portagoteros en cada línea de cultivo, con emisores en línea de 3 L h⁻¹ cada 0,25 m (4,44 emisores m⁻²). La presión de trabajo fue de 1,8 atm. La programación del riego se realizó mediante sensores de humedad (ECH₂O EC-5, Decagon Devices) manteniendo valores de 20-30% de cantidad volumétrica de agua en la zona radicular, permitiendo un agotamiento del agua del suelo del 30% como criterio de riego.

Se realizaron dos tratamientos diferentes: control sin aplicación de ningún producto, y aplicación foliar del producto BRANDT® MANNI-PLEX® Ca, con tres repeticiones de cada

tratamiento con 8 plantas de pimiento por repetición. El producto estaba compuesto por Ca complejo con polioles. El contenido de Ca soluble en agua fue del 10%. La cantidad de producto utilizada en cada aplicación foliar fue de 3 mL/L. Los productos se aplicaron cada 15 días, siendo la primera aplicación el 27 de mayo de 2021, la segunda el 11 de junio de 2021, la tercera el 26 de junio de 2021 y la cuarta el 11 de julio de 2021.

El muestreo de plantas y frutos se realizó el 19 de julio de 2021 (8 días después de la cuarta aplicación foliar de los productos). Se aplicaron dos condiciones de postcosecha a los frutos: una a temperatura ambiente (20-23°C) que duró 7 días, y otra en cámara frigorífica a 4°C con una duración de 14 días. Los distintos tiempos de postcosecha dependieron de la duración de los frutos de control en estado comercializable.

2.3. Muestreo de plantas y frutos

En el muestreo del material vegetal (19 de julio de 2021), se cortaron los brotes de 4 plantas por repetición para determinar el peso en fresco. Además, se tomaron muestras de 4 hojas de cada planta de las zonas basal, intermedia y apical. Las hojas muestreadas de las diferentes partes (basal, intermedia y apical) se tomaron de todas las plantas a la misma altura y con el mismo grado de desarrollo. Además de las hojas, se tomaron muestras de los frutos comercializables en estadio verde de cada planta para su análisis en el momento de la cosecha.

Los componentes de la producción y las características de los frutos se analizaron de la siguiente manera: número de frutos comercializables, peso de los frutos comercializables, porcentaje de frutos respecto al total que presentaban fisiopatías relacionadas con la carencia de Ca, longitud y firmeza. Además, utilizando frutos en estadio verde recolectados en cada tratamiento, se realizó un estudio postcosecha tanto a temperatura ambiente (20-23 °C) para imitar la vida útil, como en cámara frigorífica a 4°C. Se seleccionaron al azar nueve frutos (tres frutos por repetición) y se utilizaron para el experimento postcosecha. Los frutos a temperatura ambiente se muestrearon a los 7 días de almacenamiento y los frutos a 4°C se muestrearon a los 14 días de almacenamiento. Los análisis se realizaron en los frutos al principio y al final de la postcosecha. De todos los frutos se obtuvo el peso fresco y el peso seco, el porcentaje de pérdida de agua y la firmeza. Se obtuvo aleatoriamente una submuestra de cada uno de los 9 frutos y se midió independientemente para determinar la acidez titulable °BRIX, concentraciones de malondialdehído (MDA) y ascorbato (AsA), y pruebas de capacidad antioxidante. La concentración de MDA se determinó al final de la postcosecha.

2.4. Análisis del material vegetal

2.4.1. Análisis de la fluorescencia de Chl a

Las plantas se adaptaron 30 min a la oscuridad antes de realizar las mediciones utilizando una pinza foliar especial que se colocó en cada una de las hojas. La cinética de fluorescencia de Chl a se determinó utilizando el fluorímetro de clorofila Handy PEA (Hansatech Ltd., King's Lynn, Norfolk, Reino Unido); las fases de OJIP se indujeron mediante luz roja (650 nm) con una intensidad luminosa de 3000 μmol de fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Las fases de la fluorescencia OJIP se analizaron mediante el ensayo JIP. Las mediciones se realizaron en hojas completamente desarrolladas en una posición media de la planta y en cinco plantas por tratamiento. Para estudiar los flujos de energía y la actividad fotosintética, se utilizaron los siguientes parámetros obtenidos del ensayo JIP: la relación fluorescencia variable/máxima fluorescencia F_v/F_m , la proporción de centros de reacción activos (RC) (RC/ABS) y el índice de rendimiento (PIABS) [19].

2.4.2. Determinación de la concentración de Ca total y Ca ligado a pectinas

Se determinó la concentración de Ca total y Ca ligado a pectinas en las hojas tomadas de las diferentes partes de la planta y en los frutos comercializables. La determinación de Ca total se realizó mediante ICP-OES, para lo cual se tomaron 0,2 g de material vegetal seco y molido y se sometió a digestión con HNO_3 y H_2O_2 al 30% a 300 °C [20]. Para determinar la concentración de Ca ligado a pectinas, se pesaron 0,1 g de material vegetal al que se añadió 1 mL de tampón de extracción (50 mM de tampón Tris-HCl, $\text{pH} = 7,5 + 0,25$ mM de sacarosa

+ 1 mM de DTT). La mezcla se centrifugó a 5000 g durante 15 min y el precipitado obtenido se secó, sometándose posteriormente a digestión con HNO₃ y H₂O₂ al 30% a 300 °C [20]. Finalmente, se analizó la concentración de Ca ligado a pectinas en la mineralización resultante mediante ICP-OES [21]. Los resultados se expresaron como mg Ca g⁻¹ DW.

2.4.3. Parámetros de calidad del fruto

Para la extracción de MDA se homogeneizaron 0,5 g de material vegetal fresco con 5 mL de tampón 50 mM (0,07% NaH₂PO₄ ... 2 H₂O y 1,6% Na₂HPO₄... 12 H₂O) en un mortero y posteriormente se centrifugó a 20.000x g durante 25 min en una centrifugadora refrigerada (4°C). Posteriormente, 1 mL de alícuota del sobrenadante se mezcló en tubos de ensayo con 4 mL de ácido tricloroacético al 20% que contenía ácido tiobarbitúrico al 0,5%. La mezcla resultante se calentó a 95°C durante 30 min y luego se apagó en un baño de hielo. A continuación, las muestras se centrifugaron a 10.000x g durante 10 min y se midió la absorbancia del sobrenadante a 532 nm. El valor de la absorción no específica a 600 nm se restó de la lectura obtenida a 532 nm [22]. Los resultados se expresaron en µM g⁻¹ DW.

La prueba de firmeza se realizó en frutos enteros utilizando un penetrómetro analógico GY-1 equipado con una sonda plana de 4 mm de diámetro, que mide la fuerza en kg necesaria para penetrar en el tejido del fruto. Se obtuvieron nueve medidas de firmeza por tratamiento (una por fruto). Los resultados se expresaron en Kg cm⁻².

El contenido de sólidos solubles o grados °BRIX se determinó mediante una prueba de interferencia destructiva tradicional. Se extrajo zumo de una submuestra de cada uno de los 9 frutos que se midieron por separado. Se utilizó un refractómetro de tipo Abbé (Zeiss, Oberkochen, Würt, Alemania, Modelo B). Los resultados se expresaron en % de contenido de sólidos solubles.

La acidez titulable se determinó utilizando un medidor de pH GLP 21. Se obtuvo una submuestra de 5 g de cada uno de los 9 frutos y se maceró independientemente con 50 mL de agua destilada. A continuación, se calibró el medidor de pH y se introdujo el electrodo en el licor de zumo de fruta, al que previamente se habían añadido 5 mL de agua destilada. La acidez titulable se determinó utilizando el volumen de NaOH 0,1 N necesario para alcanzar un pH de 8,2. Los resultados se expresaron en % de ácido cítrico.

Para la extracción y cuantificación de AsA, se siguió el método de Law et al. [23]. Este método se basa en la reducción de Fe³⁺ a Fe²⁺ por AsA en solución ácida. La absorbancia a 525 nm se midió frente a una curva estándar de AsA. Los resultados se expresaron como mg AsA g⁻¹ FW.

El ensayo de capacidad antioxidante y potencial férrico-reductor (FRAP) se realizó con el reactivo FRAP, compuesto por 1 mM de 2,4,6-tripirildil-2-triazina (TPTZ) y 20 mM de FeCl₃ en 0,25 M CH₃COONa, pH 3,6. Un extracto de 100 µL obtenido de la homogeneización foliar en 10 mL de metanol se añadió a 2 mL de reactivo FRAP. Posteriormente, la mezcla se incubó a temperatura ambiente (20°C) durante 5 min. La absorbancia se midió a 593 nm frente a una curva estándar de 25-1600 µM Fe³⁺ preparada utilizando una solución madre de sulfato ferroso 25 mM [24]. Los resultados se expresaron como mg de sulfato ferroso g⁻¹ FW.

La prueba de actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) se llevó a cabo utilizando una versión modificada del método de Cai et al. [25]. En primer lugar, se mezclaron 7 mM de 2,2'-azinobis- (ácido 3-etilbenzotiazolina-6- sulfónico) (ABTS) con 2,45 mM de persulfato de potasio para producir el catión ABTS⁺, para lo cual la mezcla resultante se incubó durante 16 h en la oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se diluyó la solución ABTS⁺ resultante. Una alícuota de 100 µL de extracto foliar (0,5 g/10 mL de metanol) se mezcló enérgicamente con 3,9 mL de solución ABTS y se registró la absorbancia a 734 nm. Se utilizó una curva estándar de 0-15 µM de trolox. Los resultados se expresaron como mmol Trolox g⁻¹ FW.

2.5. Análisis estadístico

Todos los análisis se repitieron por triplicado y la comparación estadística entre los dos tratamientos se realizó mediante la prueba t de Student. Las diferencias entre las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de la diferencia honestamente

significativa (HSD) de Tukey con un nivel de probabilidad del 95%. Los niveles de significación se expresaron como: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS (no significativo).

3. Resultados y discusión

3.1. Biomasa vegetal y fotosíntesis

Uno de los parámetros que definen con mayor fiabilidad el estado nutricional de las plantas es la producción de biomasa expresada en biomasa fresca o seca, por lo que estos parámetros se utilizan habitualmente como indicadores para definir la eficacia de cualquier producto agroquímico en las plantas [1,26]. Considerando los datos obtenidos, el crecimiento de las plantas de pimiento se vio estimulado por la aplicación del producto evaluado en comparación con el crecimiento de las plantas control, en las que se obtuvieron los valores mínimos (Figura 1). Por lo tanto, la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca es útil para aumentar la biomasa de las plantas. Resultados similares se observaron en plantas de hierba limón (lemongrass) cuyo crecimiento fue estimulado mediante la aplicación de nutrientes combinados con polioles [24].

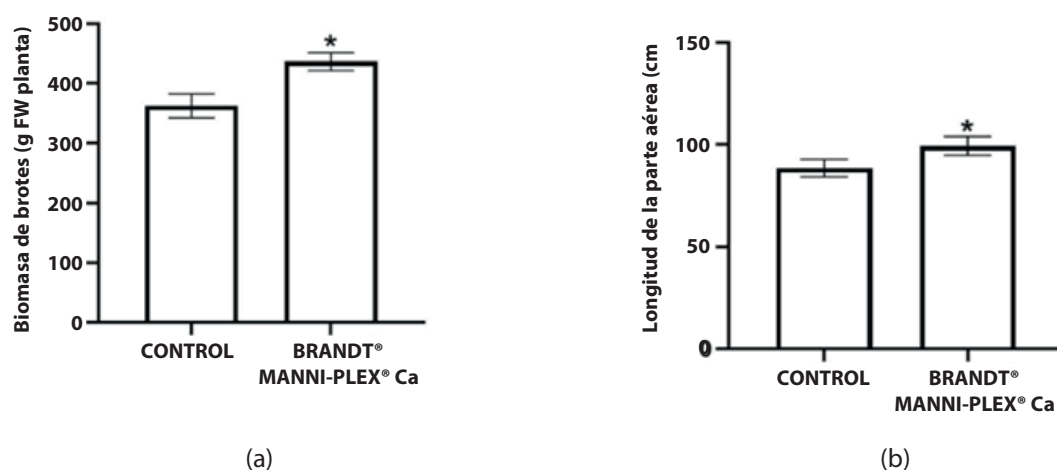


Figura 1. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre la biomasa vegetativa (a) y la longitud de la parte aérea (b) de las plantas de pimiento. Los valores corresponden a \pm error estándar de la media ($n = 12$). El nivel de significación fue representado por $p < 0.05$ (*).

Un requisito o mecanismo de acción que deben cumplir los diferentes biofertilizantes y/o productos agroquímicos es la inducción o al menos el mantenimiento de la fotosíntesis [27]. Para comprobar este efecto con el producto de Ca estudiado, analizamos diferentes parámetros indicadores de la actividad fotosintética de las plantas. Así, en este estudio, analizamos parámetros de fluorescencia relacionados con la actividad e integridad del fotosistema II (F_v/F_m , RC/ABS , y PI_{ABS}). La fotosíntesis está estrechamente relacionada con el crecimiento de las plantas y su tolerancia a diferentes tipos de estrés, por ejemplo, la limitación de ciertos macronutrientes como el Ca, ya que este nutriente es clave en la estabilización del cofactor clúster Mn_4CaO_5 , necesario para la oxidación de H_2O a O_2 y el transporte de electrones [2,28]. La fluorescencia de Chl *a* refleja el estado fotosintético de la planta y los cambios fotosintéticos producidos bajo los efectos del estrés. Uno de los parámetros derivados del análisis de la fluorescencia de Chl *a* es el rendimiento cuántico de la fotosíntesis primaria (F_v/F_m), que es un buen indicador del rendimiento fotosintético de las plantas [29]. En el presente experimento, no se observaron valores diferentes de F_v/F_m entre los dos tratamientos. De forma similar, las plantas de manzano a las que se suministró nutrientes mediante la tecnología MANNI-PLEX® no mostraron diferencias en los valores de F_v/F_m [30]. El análisis de fluorescencia de Chl *a* también nos proporciona una serie de índices que definen la vitalidad de la planta. Así, valores elevados de la relación RC/ABS indican una mayor proporción de centros de reacción activos, lo que lo convierte en un parámetro esencial en el funcionamiento de la cadena de transporte de electrones en los fotosistemas. Además, el índice PI_{ABS} es un índice de rendimiento

fotosintético y representa la funcionalidad global del flujo de electrones a través del PSII [29]. Los valores de estos dos parámetros fueron superiores en las plantas tratadas con el bioestimulante que en las plantas control (Tabla 1), lo que sugiere un efecto positivo de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre el rendimiento fotosintético que también podría contribuir a la mayor biomasa observada en estas plantas (Figura 1).

Tabla 1. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre algunos parámetros de fluorescencia de Chl *a* analizados en hojas de plantas de pimiento.

	Control	BRANDT® MANNI-PLEX®	Valor <i>p</i>	HSD _{0.05}
Fv/Fm	0.827 ± 0.004	0.824 ± 0.004	NS	0.03
RC/ABS	0.86 ± 0.03	1.31 ± 0.09	**	0.21
PI _{ABS}	8.36 ± 1.09	11.74 ± 1.18	*	2.57

Los valores corresponden a ± el error estándar de la media (*n* = 9). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de significación se representaron como *p* > 0,05 (NS), *p* < 0,05 (*) y *p* < 0,01 (**).

3.2. Concentración de Ca en los distintos órganos de la planta

Una característica importante del Ca es su inmovilidad en el floema, lo que implica que existe una translocación muy limitada de Ca desde las hojas maduras de las plantas (órganos fuente) hacia las hojas jóvenes, brotes y frutos (órganos sumidero) [1,2]. Actualmente, una de las estrategias para incrementar la absorción foliar, concentración y distribución de sustancias con baja movilidad a través del floema por los diferentes órganos vegetales del brote, incluyendo los frutos, es el llamado proceso de vectorización [9-11]. El proceso de vectorización de los diferentes agroquímicos que presentan dificultad en su distribución por la planta consiste en facilitar y controlar la distribución de estos compuestos dentro de la planta a través de su asociación con un vector [12-14]. La eficacia del proceso de vectorización se analizó en el presente experimento midiendo la concentración de Ca en los diferentes órganos de la planta. Así, la concentración total de Ca en hojas basales, intermedias, jóvenes y frutos fue superior a la de las plantas control en las plantas a las que se les administró BRANDT® MANNI-PLEX® Ca (Tabla 2). De hecho, este producto produjo incrementos respecto a las concentraciones totales de Ca obtenidas en las plantas control del 34% en hojas basales, 42% en hojas intermedias, 35% en hojas jóvenes y 76% en frutos (Tabla 2). Apoyando estos resultados, otros estudios también observaron un aumento del contenido de Ca en el suministro de tomate y melón verde con un compuesto de manitol-Ca aplicado a las hojas antes de la cosecha [31,32].

Tabla 2. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre la concentración de Ca total y Ca ligado a pectinas (mg g⁻¹ DW) en plantas de pimiento.

		Control	BRANDT® MANNI-PLEX®	Valor <i>p</i>	HSD _{0.05}
Hojas basales	[Ca] tot	33.92 ± 2.49	41.30 ± 2.52	*	5.67
	[Ca] pec	23.74 ± 1.58	30.97 ± 2.09	*	3.98
Hojas intermedias	[Ca] tot	30.35 ± 2.09	37.63 ± 2.20	*	4.32
	[Ca] pec	23.06 ± 1.77	30.85 ± 2.98	*	3.05
Hojas jóvenes	[Ca] tot	16.57 ± 0.73	20.12 ± 0.83	**	1.47
	[Ca] pec	11.23 ± 0.60	15.43 ± 0.62	**	1.23
Frutos	[Ca] tot	1.33 ± 0.11	2.02 ± 0.16	**	0.27
	[Ca] pec	0.94 ± 0.07	1.57 ± 0.13	**	0.18

[Ca] tot: Concentración total de Ca, [Ca] pec: Ca ligado a pectinas. Los valores corresponden a ± error estándar de la media (*n* = 9). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de significación se representaron como *p* < 0,05 (*), y *p* < 0,01 (**).

Las plantas a las que se les administró el producto de Ca también presentaron las mayores concentraciones de Ca ligado a pectinas en las distintas partes analizadas de las plantas (Tabla 2). La síntesis de pectinas y la unión del Ca a estas estructuras está estrechamente ligada a la concentración de Ca total en los diferentes tejidos de la planta [1,2,26]. En resumen, el producto basado en la vectorización de Ca evaluado en este estudio representa una estrategia válida y eficaz para incrementar la captación de Ca a través del follaje, su concentración y su distribución a través del floema a las diferentes partes de la planta, incluyendo las zonas activas de crecimiento como las hojas jóvenes y los frutos. La mayor concentración de Ca total, y especialmente de Ca ligado a pectinas, en plantas tratadas con el producto podría significar un aumento de la resistencia de las plantas a la presencia de estreses tanto abióticos como bióticos, dado el papel protector de estos compuestos [33,34]. Así, la mayor biomasa podría deberse posiblemente a un aumento en la concentración de Ca ligado a pectinas, que podría actuar evitando y/o reduciendo la pérdida de agua en estas plantas facilitando así su adaptación a estreses ambientales.

3.3. Producción y características de los frutos

Considerando los diferentes componentes de la producción, la aplicación del producto a base de Ca fue eficaz para inducir una mejora significativa en la producción de las plantas de pimiento (Tabla 3). De hecho, las plantas a las que se suministró el producto mostraron un mayor número de frutos comercializables (+43%), peso de los frutos comercializables (+46%) y producción comercializable (+46%) en comparación con las plantas control. Por lo tanto, el uso de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca podría ser muy útil para los agricultores al aumentar considerablemente la producción de frutos de pimiento.

Tabla 3. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre los componentes productivos en plantas de pimiento y algunos componentes de la calidad de los frutos de pimiento durante la cosecha.

	Control	BRANDT® MANNI-PLEX® Ca	Valor <i>p</i>	HSD _{0.05}
N.º de frutos comercializables planta ⁻¹	3.52 ± 0.66	5.05 ± 0.61	**	1.22
Peso de los frutos comercializables planta ⁻¹ (g)	138.17 ± 22.43	202.07 ± 39.61	*	60.53
Producción comercializable (g m ⁻²)	276.34 ± 36.55	404.14 ± 57.32	*	94.21
Longitud (cm)	11.42 ± 1.35	15.29 ± 1.87	*	3.56
Firmeza (Kg cm ⁻²)	0.47 ± 0.10	0.77 ± 0.11	*	0.20
°BRIX (%)	4.40 ± 0.41	4.67 ± 0.35	NS	0.82
Acidez titulable (%)	0.38 ± 0.06	0.34 ± 0.04	NS	0.13

Los valores corresponden a ± error estándar de la media (n = 9). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de significación se representaron como p > 0,05 (NS), p < 0,05 (*) y p < 0,01 (**).

En cuanto a los parámetros relacionados con la calidad de los frutos de pimiento, cabe destacar que los pimientos del tratamiento BRANDT® MANNI-PLEX® Ca presentaron mayores valores de longitud de fruto (Tabla 3), lo que sugiere que la aplicación de este producto promueve eficazmente el crecimiento y desarrollo de los frutos. Además, la firmeza es otro parámetro que muestra una asociación directamente proporcional con la concentración de Ca ligado a pectinas en los frutos [35-37]. Esta relación se observa claramente en este estudio ya que los frutos con los valores más altos de firmeza se presentaron en las plantas tratadas y los más bajos en las plantas control (Tabla 3). Estos resultados confirman que la aplicación de productos con Ca incrementó significativamente la firmeza de los pimientos (Tabla 3), al inducir una mayor concentración de Ca ligado a pectinas en los frutos (Tabla 2). Finalmente, en cuanto a parámetros de calidad como grados °BRIX y acidez, no se obtuvieron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos analizados (Tabla 3), lo que sugiere que las propiedades organolépticas de los

pimientos no se ven afectadas por la aplicación del producto. Estos resultados coinciden con los observados en otros estudios donde se aplicó Ca ligado a diferentes quelatos [30-32].

3.4. Fisiopatías en los frutos

En frutos como tomates, pimientos y calabacines, la deficiencia de Ca es frecuente, generando podredumbre y áreas necróticas en el extremo distal del fruto, una fisiopatía conocida como "blossom end rot" (BER) o podredumbre apical. La BER es un desorden fisiológico que ocurre principalmente en frutos y está asociado con el estrés hídrico, y especialmente con una deficiencia localizada de Ca, que tiene un efecto muy negativo en la producción de muchos cultivos [5]. En nuestro estudio, el porcentaje de frutos que presentaron fisiopatología relacionada con la deficiencia de Ca fue menor en las plantas tratadas con BRANDT[®] MANNI-PLEX[®] Ca, situándose en torno al 3,5% del total de frutos frente al 13% observado en las plantas control (Figura 2a). Así, la incidencia de fisiopatías se redujo en un 70% debido a la aplicación del producto. En general, los datos presentados en la Tabla 3 y Figura 2a se reflejan claramente en la Figura 2b, donde se muestra la eficacia de los productos a base de Ca.



Figura 2. Efecto de la aplicación de BRANDT[®] MANNI-PLEX[®] Ca sobre el porcentaje de frutos con fisiopatías relacionadas con la deficiencia de Ca (a) y fotografía que muestra el aspecto de los frutos de pimiento (b). Los valores corresponden a \pm error estándar de la media ($n = 9$). El nivel de significación fue representado por $p < 0,001$ (***)

Estos resultados indican la eficacia del producto en la prevención de la aparición de este tipo de fisiopatías, posiblemente debido a un mejor control nutricional de los frutos en cuanto a la concentración de Ca, y especialmente a una mayor concentración de Ca ligado a las pectinas en los frutos (Tabla 2). En efecto, diferentes estudios demostraron que la aparición de BER es el resultado de la ruptura de las membranas plasmáticas y del reblandecimiento irregular de las paredes celulares, debido a procesos de desintegración de las cadenas de pectina por la acción de enzimas específicas de degradación, todo ello provocado por la deficiencia de Ca en los frutos. En este sentido, se ha demostrado que un aumento de los niveles de Ca en el fruto reduce de forma muy significativa la aparición de BER [35-37].

3.5. Estudio postcosecha

En los estudios postcosecha, los índices más importantes que indican el mantenimiento del vigor del material vegetal almacenado (vida útil) son el porcentaje de pérdida de peso fresco o el porcentaje de pérdida de agua, y la concentración de malondialdehído (MDA) [38]. Así, a lo largo del experimento, el peso del fruto disminuyó principalmente debido a la pérdida de agua. Sin embargo, esta disminución fue mucho menor en los frutos de las plantas tratadas con el producto a base de Ca, lo que también se reflejó en un menor porcentaje de pérdida de agua en comparación con los frutos control. La concentración de MDA es el parámetro indicador de la peroxidación lipídica de membrana y un incremento

en sus valores sugiere la presencia excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) tóxicas [39,40]. Las ERO se derivan de los procesos de maduración que conducen a la degradación de estructuras, como la pared y las membranas celulares, y de compuestos orgánicos implicados en la calidad de los frutos, como vitaminas, aminoácidos, etc. [41]. En la Tabla 4 y en la Figura 3 comprobamos que la postcosecha a temperatura ambiente durante 7 días fue mucho más estresante y dañina que la producida a una temperatura de 4 °C durante 14 días, donde la concentración de MDA en los frutos fue menor. Las plantas tratadas mostraron los frutos con las mayores concentraciones de Ca total y Ca ligado a pectinas (Tabla 2) y fueron las que más eficazmente mantuvieron la integridad de los frutos de pimiento durante el almacenamiento, retrasando así los procesos de maduración y degradación de las estructuras y componentes celulares.

Tabla 4. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre el peso fresco inicial y final y el porcentaje de pérdida de agua en frutos de pimiento sometidos a postcosecha a temperatura ambiente y 4 °C.

Temperatura	Tratamiento	Peso fresco inicial (g fruto ⁻¹)	Peso fresco final (g fruto ⁻¹)	Pérdida de agua (%)
Temperatura ambiente	Control	29.04 ± 4.72	11.83 ± 1.59	59.26 ± 6.03
	BRANDT® MANNI-PLEX® Ca	35.41 ± 4.78	30.53 ± 3.16	13.78 ± 2.48
	Valor p	*	**	***
	HSD _{0,05}	5.35	4.31	9.33
4°C	Control	30.27 ± 3.98	20.75 ± 2.31	31.45 ± 3.17
	BRANDT® MANNI-PLEX® Ca	37.18 ± 4.83	34.98 ± 3.07	5.92 ± 0.46
	Valor p	*	**	***
	HSD _{0,05}	5.73	4.32	4.96

Los valores corresponden a ± error estándar de la media (n = 9). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de significación se representaron como p < 0,05 (*), p < 0,01 (**) y p < 0,001 (***).

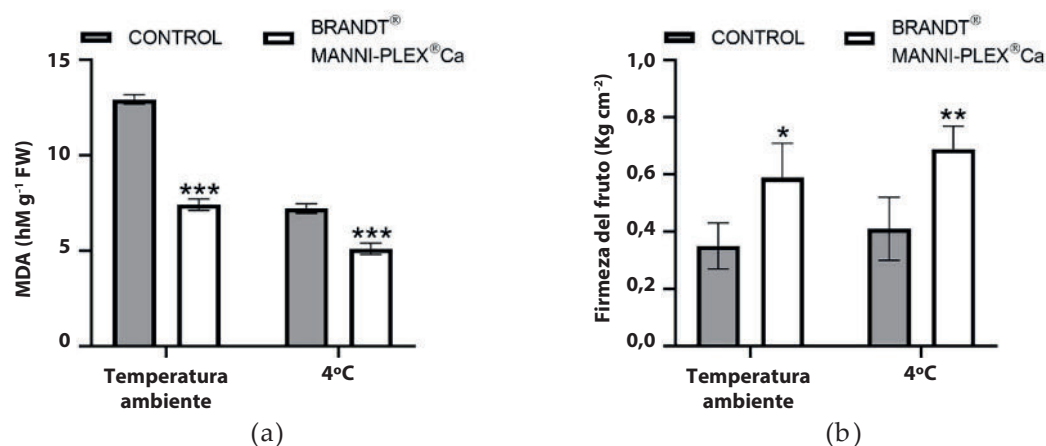


Figura 3. Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre la concentración de MDA (a) y sobre la firmeza del pimiento (b) en frutos de pimiento sometidos a postcosecha a temperatura ambiente y 4 °C. Los valores corresponden a ± error estándar de la media (n = 9). Los niveles de significación se representaron mediante p < 0,05 (*) y p < 0,001 (***).

El mantenimiento del vigor y la integridad del fruto antes del almacenamiento postcosecha se confirmó con los datos de firmeza (Figura 3b). En la Figura 3b comprobamos que el producto, con las máximas concentraciones de Ca total y Ca ligado a pectinas (Tabla 2), presentó los mayores valores de firmeza tras la conclusión del periodo de almacenamiento tanto a temperatura ambiente como a 4 °C (Figura 3b). Estos resultados confirman que la aplicación del producto a base de Ca puede definirse como una herramienta eficaz para mantener la vida útil de los frutos y reducir los procesos de

maduración y degradación de las estructuras y componentes celulares en programas postcosecha. Diferentes investigaciones concluyeron que incrementos en la proporción de Ca en las pectinas de la pared celular de los frutos mejora, además de la resistencia frente a patógenos fúngicos y bacterianos, el almacenamiento y la calidad postcosecha de los frutos [35–37].

Cuando se valoran los parámetros relacionados con las propiedades organolépticas, no hubo diferencias significativas respecto a los grados °BRIX ni a la acidez titulable comparando los diferentes tratamientos al final de la postcosecha (Tabla 5). Por lo tanto, estos resultados sugieren que la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca no modifica las propiedades organolépticas de los frutos de pimiento, lo que podría afectar a su comercialización. Resultados similares se observaron en otros estudios donde se aplicaron productos vectorizantes de Ca [30–32].

Tabla 5. Efecto de la aplicación del producto BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre algunos componentes de la calidad de los frutos de pimiento (características organolépticas y capacidad antioxidante) sometidos a postcosecha a temperatura ambiente y 4 °C.

Temperatura	Tratamientos	°BRIX (%)	Acidez titulable (%)	Ascorbato (mg g ⁻¹ FW)	FRAP (mg g ⁻¹ FW)	TEAC (mmol g ⁻¹ FW)
Temperatura ambiente	Control BRANDT®	4.70 ± 0.45	0.062 ± 0.014	1.12 ± 0.06	3.03 ± 0.16	4.06 ± 0.20
	MANNI-PLEX® Ca	5.33 ± 0.30	0.044 ± 0.014	1.43 ± 0.05	3.77 ± 0.29	5.16 ± 0.26
	Valor <i>p</i> HSD _{0.05}	NS 0.85	NS 0.010	** 0.13	** 0.41	*** 0.45
4°C	Control BRANDT®	4.57 ± 0.36	0.034 ± 0.012	1.18 ± 0.04	3.15 ± 0.29	4.60 ± 0.41
	MANNI-PLEX® Ca	4.90 ± 0.28	0.034 ± 0.011	1.48 ± 0.04	3.85 ± 0.29	5.48 ± 0.17
	Valor <i>p</i> HSD _{0.05}	NS 0.73	NS 0.011	*** 0.09	* 0.62	** 0.63

Los valores corresponden a ± error estándar de la media (*n* = 9). Los valores con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. Los niveles de significación se representaron como *p* > 0,05 (NS), *p* < 0,05 (*), *p* < 0,01 (**) y *p* < 0,001 (***).

Además de los parámetros de calidad anteriormente expuestos, en este estudio también se analizaron diferentes compuestos fitoquímicos que definen la capacidad antioxidante de los productos agrícolas destinados al consumo humano, como el ascorbato o la vitamina C, y las pruebas antioxidantes FRAP y TEAC. El antioxidante más eficaz de los diferentes productos vegetales es el ascorbato, también conocido como vitamina C. Como antioxidante, el ascorbato elimina directamente las especies tóxicas reactivas del oxígeno evitando y/o reduciendo la muerte celular característica de cualquier estrés [42]. El ascorbato puede ser sintetizado por las plantas y por la mayoría de los mamíferos, pero no por los humanos [43], donde es esencial en el mantenimiento de un sistema inmune sano y en la prevención de enfermedades cardiovasculares [44]. Analizamos los valores de estos parámetros al inicio (Tabla S2) y al final de la postcosecha (Tabla 5). Los resultados mostraron valores más altos de ascorbato y pruebas antioxidantes en pimientos procedentes de plantas suplementadas con BRANDT® MANNI-PLEX® Ca, indicando una mejora en sus propiedades antioxidantes. Diferentes investigaciones han demostrado la relación positiva entre un adecuado estado nutricional de Ca en los frutos y la mejora de las propiedades fitoquímicas de los mismos, especialmente con relación a los compuestos antioxidantes [12,35–37]. Por lo tanto, BRANDT® MANNI-PLEX® Ca también podría ser útil para obtener frutos con mejores propiedades antioxidantes, lo que mejora su comerciabilidad.

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que BRANDT® MANNI-PLEX® Ca, producto basado en la vectorización de Ca, mejora el crecimiento, la concentración y distribución del Ca, así como la producción de frutos de pimiento en un cultivo con alta incidencia de fisiopatías por Ca. Así, la aplicación de este producto podría reducir considerablemente la prevalencia de este problema. Además, BRANDT® MANNI-PLEX® podría ser útil para alargar la vida útil postcosecha de los frutos de pimiento. Este último efecto podría estar relacionado con el retraso de los procesos de degradación de estructuras y componentes celulares en los frutos dando lugar a una mayor capacidad antioxidante. Sin embargo, para confirmar la utilidad del producto, sería necesario analizar la relación coste-beneficio y probar su eficacia en diferentes cultivares. También serían necesarios más estudios para determinar su mecanismo de acción.

Materiales complementarios: La siguiente información complementaria puede descargarse en: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/agronomy12020410/s1>, Tabla S1: Condiciones microclimáticas durante el experimento, Tabla S2: Efecto de la aplicación de BRANDT® MANNI-PLEX® Ca sobre algunos componentes fitoquímicos de la calidad de los frutos de pimiento al inicio del periodo de recolección.

Contribuciones de los autores: Conceptualización, J.M.R., M.A.F., J.Y. y J.J.M.; metodología, F.J.L.-M., B.B. y E.N.-L.; validación, B.B., M.A.F., J.Y., J.J.M. y J.M.R.; análisis formal, E.N.-L. y F.J.L.-M.; curación de datos, E.N.-L. y B.B.; redacción-elaboración del borrador original, E.N.-L.; redacción-revisión y edición, J.M.R., M.A.F., J.Y., J.J.M. y B.B. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por el programa PAI (Plan Andaluz de Investigación, Grupo de Investigación AGR282). Los financiadores no tuvieron ningún papel en el diseño del estudio, en la recogida, análisis o interpretación de los datos, en la redacción del manuscrito o en la decisión de publicar los resultados.

Declaración del Comité de Ética de la Investigación: No procede.

Declaración de consentimiento informado: No procede.

Declaración de disponibilidad de datos: No procede.

Agradecimientos: Agradecemos a Teresa Soriano, Concepción Casero-Godody, Araceli Cabello, Pedro Fernández, Manuel Conejero y Carmelo Caballero el continuo esfuerzo y apoyo que han prestado para la realización de este trabajo.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Epstein, E.; Bloom, A.J. *Mineral Nutrition of Plants; Principles and Perspective*; Sinauer Associates, Inc.: Sunderland, MA, USA, 2005.
2. De Bang, T.C.; Husted, S.; Laursen, K.H.; Persson, D.P.; Schjoerring, J.K. The Molecular–Physiological Functions of Mineral Macronutrients and Their Consequences for Deficiency Symptoms in Plants. *New Phytol.* **2021**, *229*, 2446–2469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. White, P.J.; Broadley, M.R. Calcium in Plants. *Ann. Bot.* **2003**, *92*, 487–511. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Song, W.-P.; Chen, W.; Yi, J.-W.; Wang, H.-C.; Huang, X.-M. Ca Distribution Pattern in Litchi Fruit and Pedicel and Impact of Ca Channel Inhibitor, La³⁺. *Front. Plant Sci.* **2018**, *8*, 2228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Hagassou, D.; Francia, E.; Ronga, D.; Buti, M. Blossom End-Rot in Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.): A Multi-Disciplinary Overview of Inducing Factors and Control Strategies. *Sci. Hortic.* **2019**, *249*, 49–58. [[CrossRef](#)]
6. Sourì, M.K.; Sooraki, F.Y. Benefits of Organic Fertilizers Spray on Growth Quality of Chili Pepper Seedlings under Cool Temperature. *J. Plant Nutr.* **2019**, *42*, 650–656. [[CrossRef](#)]
7. Bonomelli, C.; Fernández, V.; Martiz, J.; Videla, X.; Arias, M.I.; Rojas-Silva, X.; Nario, A. Absorption and Distribution of Root, Fruit, and Foliar-applied ⁴⁵Ca in ‘Clemenules’ Mandarin Trees. *J. Sci. Food Agric.* **2020**, *100*, 4643–4650. [[CrossRef](#)]
8. Bonomelli, C.; Alcalde, C.; Aguilera, C.; Videla, X.; Rojas-Silva, X.; Nario, A.; Fernandez, V. Absorption and Mobility of Radio-Labelled Calcium in Chili Pepper Plants and Sweet Cherry Trees. *Sci. Agric.* **2021**, *78*, 1–7. [[CrossRef](#)]

9. Castro, M.J.L.; Ojeda, C.; Cirelli, A.F. Advances in Surfactants for Agrochemicals. *Environ. Chem. Lett.* **2014**, *12*, 85–95. [[CrossRef](#)]
10. Larsen, B.; Xu, D.; Halkier, B.A.; Nour-Eldin, H.H. Advances in Methods for Identification and Characterization of Plant Transporter Function. *J. Exp. Bot.* **2017**, *68*, 4045–4056. [[CrossRef](#)]
11. Wu, H.; Xu, H.; Marivingt-Mounir, C.; Bonnemain, J.; Chollet, J. Vectorizing Agrochemicals: Enhancing Bioavailability via Carrier-mediated Transport. *Pest Manag. Sci.* **2019**, *75*, 1507–1516. [[CrossRef](#)]
12. Nestby, R.; Lieten, F.; Pivot, D.; Lacroix, C.R.; Tagliavini, M. Influence of Mineral Nutrients on Strawberry Fruit Quality and Their Accumulation in Plant Organs. *Int. J. Fruit Sci.* **2005**, *5*, 139–156. [[CrossRef](#)]
13. Brown, P.H.; Bellaloui, N.; Wimmer, M.A.; Bassil, E.S.; Ruiz, J.; Hu, H.; Pfeffer, H.; Dannel, F.; Römheld, V. Boron in Plant Biology. *Plant Biol.* **2002**, *4*, 205–223. [[CrossRef](#)]
14. Ali, Q.; Shahid, S.; Ali, S.; El-Esawi, M.A.; Hussain, A.I.; Perveen, R.; Iqbal, N.; Rizwan, M.; Nasser Alyemeni, M.; El-Serehy, H.A.; et al. Fertigation of Ajwain (*Trachyspermum Ammi* L.) with Fe-Glutamate Confers Better Plant Performance and Drought Tolerance in Comparison with FeSO₄. *Sustainability* **2020**, *12*, 7119. [[CrossRef](#)]
15. Miguel, M.G.; Lourenço, J.P.; Faleiro, M.L. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles and Essential Oils: A New Tool for Biological Applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 6633. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Minchin, P.E.H.; Thorp, T.G.; Boldingh, H.L.; Gould, N.; Cooney, J.M.; Negm, F.B.; Focht, E.; Arpaia, M.L.; Hu, H.; Brown, P. A Possible Mechanism for Phloem Transport of Boron in ‘Hass’ Avocado (*Persea Americana* Mill.) Trees. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* **2012**, *87*, 23–28. [[CrossRef](#)]
17. Hu, H.; Penn, S.G.; Lebrilla, C.B.; Brown, P.H. Isolation and Characterization of Soluble Boron Complexes in Higher Plants (The Mechanism of Phloem Mobility of Boron). *Plant Physiol.* **1997**, *113*, 649–655. [[CrossRef](#)]
18. Casas, A. *Cultivos Sin Suelo II Curso Superior de Especialización*; Fernández, M., Cuadrado, I., Eds.; Dirección General de Investigación y Formación Agraria: Almería, Spain, 1999; pp. 527–566.
19. Strasser, R.J.; Tsimilli-Michael, M.; Srivastava, A. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. In *Chlorophyll a Fluorescence*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2004; pp. 321–362.
20. Wolf, B. A Comprehensive System of Leaf Analyses and Its Use for Diagnosing Crop Nutrient Status. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1982**, *13*, 1035–1059. [[CrossRef](#)]
21. Su, Y.; Liu, J.; Lu, Z.; Wang, X.; Zhang, Z.; Shi, G. Effects of Iron Deficiency on Subcellular Distribution and Chemical Forms of Cadmium in Peanut Roots in Relation to Its Translocation. *Environ. Exp. Bot.* **2014**, *97*, 40–48. [[CrossRef](#)]
22. Fu, J.; Huang, B. Involvement of Antioxidants and Lipid Peroxidation in the Adaptation of Two Cool-Season Grasses to Localized Drought Stress. *Environ. Exp. Bot.* **2001**, *45*, 105–114. [[CrossRef](#)]
23. Law, M.Y.; Charles, S.A.; Halliwell, B. Glutathione and Ascorbic Acid in Spinach (*Spinacia Oleracea*) Chloroplasts. The Effect of Hydrogen Peroxide and of Paraquat. *Biochem. J.* **1983**, *210*, 899–903. [[CrossRef](#)]
24. Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* **1996**, *239*, 70–76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Cai, Y.; Luo, Q.; Sun, M.; Corke, H. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer. *Life Sci.* **2004**, *74*, 2157–2184. [[CrossRef](#)]
26. Maathuis, F.J. Physiological Functions of Mineral Macronutrients. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2009**, *12*, 250–258. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Paradiković, N.; Vinković, T.; Vinković Vrček, I.; Žuntar, I.; Bojić, M.; Medić-Šarić, M. Effect of Natural Biostimulants on Yield and Nutritional Quality: An Example of Sweet Yellow Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Plants. *J. Sci. Food Agric.* **2011**, *91*, 2146–2152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Hochmal, A.K.; Schulze, S.; Trompelt, K.; Hippler, M. Calcium-Dependent Regulation of Photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta—Bioenerg.* **2015**, *1847*, 993–1003. [[CrossRef](#)]
29. Strasser, R.; Srivastava, A.; Tsimilli-Michael, M. The Fluorescence Transient as a Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples. In *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation*; Yunus, M., Pathre, U., Mohanty, P., Eds.; Taylor & Francis: London, UK, 2000; pp. 443–480.
30. Mwije, A.; Hoffman, E.W.; Lötze, E. Apple Peel Biochemical Changes after Foliar Application of Combined Boron and Calcium II. Photosynthetic Pigments, Total Peroxides and Photochemical Efficiency. *Am. J. Plant Sci.* **2020**, *11*, 939–964. [[CrossRef](#)]
31. Lester, G.E.; Grusak, M.A. Field Application of Chelated Calcium: Postharvest Effects on Cantaloupe and Honeydew Fruit Quality. *HortTechnology* **2004**, *14*, 29–38. [[CrossRef](#)]
32. Lötze, E.; Turketti, S. Efficacy of Foliar Application of Calcium Products on Tomatoes as Defined by Penetration Depth and Concentration within Fruit Tissues. *J. Plant Nutr.* **2015**, *38*, 2112–2125. [[CrossRef](#)]
33. Gigli-Bisceglia, N.; Engelsdorf, T.; Hamann, T. Plant Cell Wall Integrity Maintenance in Model Plants and Crop Species-Relevant Cell Wall Components and Underlying Guiding Principles. *Cell. Mol. Life Sci.* **2020**, *77*, 2049–2077. [[CrossRef](#)]
34. Reem, N.T.; Chambers, L.; Zhang, N.; Abdullah, S.F.; Chen, Y.; Feng, G.; Gao, S.; Soto-Burgos, J.; Pogorelko, G.; Bassham, D.C.; et al. Post-Synthetic Reduction of Pectin Methylesterification Causes Morphological Abnormalities and Alterations to Stress Response in Arabidopsis Thaliana. *Plants* **2020**, *9*, 1558. [[CrossRef](#)]

35. De Freitas, S.T.; Shackel, K.A.; Mitcham, E.J. Abscisic Acid Triggers Whole-Plant and Fruit-Specific Mechanisms to Increase Fruit Calcium Uptake and Prevent Blossom End Rot Development in Tomato Fruit. *J. Exp. Bot.* **2011**, *62*, 2645–2656. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Winkler, A.; Knoche, M. Calcium and the Physiology of Sweet Cherries: A Review. *Sci. Hortic.* **2019**, *245*, 107–115. [[CrossRef](#)]
37. Bai, Q.; Shen, Y.; Huang, Y. Advances in Mineral Nutrition Transport and Signal Transduction in Rosaceae Fruit Quality and Postharvest Storage. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 68. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. De Azevedo Neto, A.D.; Prisco, J.T.; Enéas-Filho, J.; de Abreu, C.E.B.; Gomes-Filho, E. Effect of Salt Stress on Antioxidative Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves and Roots of Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Maize Genotypes. *Environ. Exp. Bot.* **2006**, *56*, 87–94. [[CrossRef](#)]
39. Sánchez-Rodríguez, E.; Rubio-Wilhelmi, M.; Cervilla, L.M.; Blasco, B.; Rios, J.J.; Rosales, M.A.; Romero, L.; Ruiz, J.M. Genotypic Differences in Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress under Moderate Drought in Tomato Plants. *Plant Sci.* **2010**, *178*, 30–40. [[CrossRef](#)]
40. De la Torre-González, A.; Navarro-León, E.; Albacete, A.; Blasco, B.; Ruiz, J.M. Study of Phytohormone Profile and Oxidative Metabolism as Key Process to Identification of Salinity Response in Tomato Commercial Genotypes. *J. Plant Physiol.* **2017**, *216*. [[CrossRef](#)]
41. Chen, T.; Ji, D.; Zhang, Z.; Li, B.; Qin, G.; Tian, S. Advances and Strategies for Controlling the Quality and Safety of Postharvest Fruit. *Engineering* **2021**, *7*, 1177–1184. [[CrossRef](#)]
42. Foyer, C.H.; Noctor, G. Oxidant and Antioxidant Signalling in Plants: A Re-Evaluation of the Concept of Oxidative Stress in a Physiological Context. *Plant Cell Environ.* **2005**, *28*, 1056–1071. [[CrossRef](#)]
43. Buettner, G.R.; Jurkiewicz, B.A. Catalytic Metals, Ascorbate and Free Radicals: Combinations to Avoid. *Radiat. Res.* **1996**, *145*, 532. [[CrossRef](#)]
44. Eichholzer, M.; Lüthy, J.; Gutzwiller, F.; Stähelin, H.B. The Role of Folate, Antioxidant Vitamins and Other Constituents in Fruit and Vegetables in the Prevention of Cardiovascular Disease: The Epidemiological Evidence. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2001**, *71*, 5–17. [[CrossRef](#)]