

## CONTENIDO DE Cd Y Pb EN SUELO Y PLANTAS DE DIFERENTES CULTIVOS IRRIGADOS CON AGUAS RESIDUALES EN EL VALLE DEL MEZQUITAL, HIDALGO, MÉXICO

Francisco Marcelo LARA-VIVEROS<sup>1\*</sup>, Alejandro VENTURA-MAZA<sup>1</sup>, Muhammad EHSAN<sup>2</sup>, Alejandro RODRÍGUEZ-ORTEGA<sup>1</sup>, Jorge VARGAS-MONTER<sup>1</sup> y Nadia LANDERO-VALENZUELA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, Ingeniería en Agrociencia, Carretera Tepatepec-San Juan Tepa, México, C.P. 42600

<sup>2</sup> Department of Environmental Sciences, Faculty of Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture, King Abdulaziz University (KAU), Jeddah, Saudi Arabia

\*Autor de correspondencia: fmlara@upfim.edu.mx

(Recibido octubre 2013; aceptado septiembre 2014)

Palabras clave: metales pesados, absorción, contaminación edáfica, toxicidad

### RESUMEN

Los metales pesados tienen diferentes usos industriales desde hace cientos de años por lo cual, estos elementos pueden encontrarse en concentraciones peligrosas en el ambiente. Dos de los metales más peligrosos son el Cd y el Pb que ocasionan diversas patologías en el ser humano. La región del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo se caracteriza por el uso de aguas residuales provenientes de la Ciudad de México para la irrigación de los cultivos. Sin embargo, es probable que estas aguas contengan metales pesados que podrían absorberse en las plantas a través del agua de riego. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el grado de absorción y movilidad de Cd y Pb dentro de la planta. Se muestrearon suelos, así como dos variedades de maíz, dos de alfalfa y una de girasol. Las plantas se cortaron y dividieron en tres tercios iguales y se determinó la concentración de los dos metales tanto en el suelo como en cada una de las fracciones en que se dividió la planta. En las variedades de maíz evaluadas los valores de Cd fueron estadísticamente iguales ( $P < 0.05$ ) en los tres tercios (0.06 mg/kg), este valor fue menor a lo observado en el suelo (0.09 mg/kg). Este mismo comportamiento se observó para el Pb. En el caso de la alfalfa la concentración de Cd en ésta fue superior a la encontrada en el suelo (0.07 mg/kg en el primer tercio de la planta y 0.03 mg/kg en el suelo). Por otro lado la concentración de Pb fue similar en el suelo y en el primer tercio de la planta (0.45 mg/kg en el suelo y 0.23 mg/kg en el primer tercio de una de las dos variedades evaluadas), mientras que en el girasol se encontraron los valores más bajos de ambos metales.

Key words: heavy metals, absorption, soil contamination, toxicity

### ABSTRACT

Heavy metals have had many industrial uses for hundreds of years and consequently these elements can be found in dangerous concentrations in the environment. Two of the most toxic metals are Cd and Zn that cause various human diseases. The Mesquital Valley region in the state of Hidalgo is characterized by the use of wastewater for

agricultural purposes, but it is likely that these waters contain heavy metals that may be absorbed by plants through irrigation water. The aim of this work was to determine the Cd and Pb amount and their mobility within the plant. Two maize, two sunflower and one alfalfa variety including soil were sampled. The plants were cut and divided into three equal thirds and the concentrations of the two metals were determined in the soil and in each of the fractions in which the plant was divided. Corn Cd values were statistically equal in each of the three thirds (0.06 mg/kg), this value being lower than that observed in soil (0.09 mg/kg). The same behavior was observed in the case of Pb. The alfalfa Cd concentration in the plant was higher than that found in the soil (0.07 mg/kg in the first third of the plant and 0.03 mg/kg soil), while the lowest concentrations for both metals were found in the sunflower.

## INTRODUCCIÓN

Los metales pesados se han utilizado en muchas áreas de la industria por cientos de años. Las primeras aplicaciones fueron materiales para la construcción, pigmentos y tubos para el transporte de agua (Järup 2003). Por tal motivo los niveles de estos elementos presentes en la biosfera se han incrementado desde la revolución industrial (Gisbert *et al.* 2003).

Actualmente las fuentes antrópicas de metales pesados en el ambiente incluyen a los desechos de la industria metalúrgica, química, minera, industrias relacionadas con la fabricación de baterías y producción de fertilizantes entre otras (Faisal y Hasnain 2004).

La región del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, México aprovecha desde hace más de 100 años las aguas residuales provenientes de la Ciudad de México para la irrigación de cultivos básicos en la región. Sin embargo, es posible que estas aguas contengan metales pesados que eventualmente se depositan en el suelo y se asimilan por las especies vegetales.

En las plantas cultivadas el proceso de acumulación de metales pesados es de especial interés debido a que podrían incorporar a la cadena alimenticia elementos potencialmente peligrosos para la salud del ser humano (Grytsyuk *et al.* 2006), lo que requiere atención inmediata.

Aunque todos los metales pesados representan un riesgo, algunos de ellos se han relacionado con enfermedades que pueden representar un grave peligro a la salud humana, como el caso del Cd que se asocia a enfermedades de los huesos (Yasuda *et al.* 1995) y daño renal, además de ser considerado como un elemento cancerígeno. Por otro lado el Pb se considera un metal con efectos importantes en la salud infantil, en la que puede ocasionar daño cerebral (Järup 2003).

Los objetivos de la presente investigación fueron determinar la concentración de Cd y Pb en suelos irrigados con aguas residuales y diagnosticar la

presencia de estos mismos elementos en las especies de plantas cultivadas en dichos suelos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo de suelo y plantas

Los suelos analizados se ubican en la región del Valle del Mezquital, Hidalgo (**Cuadro I**). Se hizo un muestreo aleatorio de plantas de maíz (*Zea mays*) Caimán® y Ocelote®, así como de alfalfa (*Medicago sativa*) variedad "San Miguel Criolla 1 y San Miguel Criolla 2" y de girasol (*Helianthus annuus*) variedad "Canola". Dicho muestreo se realizó aproximadamente tres días antes de la cosecha de cada una de las especies estudiadas. Estas especies y variedades son cultivadas de manera tradicional en la región del Valle del Mezquital y forman parte importante de la cadena de producción de alimentos.

Se extrajo aproximadamente un kg de suelo a una profundidad de 30 cm. De cada uno de los cinco sitios de estudio se tomaron tres muestras y se llevaron a una estufa de aire forzado a 72 °C por tres días. Posteriormente se tamizó el suelo con una malla del

**CUADRO I.** UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LOS SUELOS ANALIZADOS PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN DE PB Y CD EN EL VALLE DEL MEZQUITAL HIDALGO, MÉXICO

Cultivo	Híbrido/Variedad	Coordenadas
Maíz	Caimán	14Q 490697.86 E 2237224 N
Maíz	Ocelote	14Q 490761.55 E 2236439.54 N
Alfalfa	San Miguel Criolla 1	14Q 490395.69 E 2236505.87 N
Alfalfa	San Miguel Criolla 2	14Q 490328.43 E 2236633.95 N
Girasol	Canola	14Q 490469.54 E 2236606.07 N

número 25. Las muestras de suelo así obtenidas se llevaron al laboratorio para su digestión.

Las plantas que crecían sobre cada uno de los suelos de los que se obtuvieron muestras, se extrajeron con todo y raíz y se cortaron en tres partes iguales. La parte inferior estuvo conformada por la raíz y una fracción de tallo (primer tercio), la parte media (segundo tercio) y la parte alta (tercer tercio). En el caso del maíz se desprendieron las hojas que envuelven a las mazorcas (brácteas) y el grano y se procesaron por separado. En el caso de las plantas de girasol, se separaron las semillas y se procesaron de manera independiente. Tanto para las plantas de maíz como para las de girasol se analizaron cinco muestras compuestas de 10 plantas cada una, mientras que para la alfalfa se colectaron cinco muestras compuestas de las plantas encontradas en un  $m^2$ . Las muestras de plantas y las de suelo fueron colocadas en una estufa de aire forzado a 75 °C por 72 h, una vez secas se molieron con un mortero hasta obtener un polvo fino que posteriormente se utilizó para su digestión.

### Determinación de Cd y Pb

El método utilizado para la determinación del Cd y Pb fue el reportado por Landero-Figueroa *et al.* (2008). En dicho procedimiento se tomó un gramo de muestra (planta o suelo), al que se le agregaron 8 mL de ácido nítrico y posteriormente se calentó a 65 °C por 60 min, después de ese tiempo se incrementó la temperatura a 120 °C por 30 min más. Posteriormente se agregaron 3.2 mL de peróxido de hidrógeno y la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). Se separaron los residuos sólidos de la muestra con papel filtro Whatman® 42 y se aforó a 50 mL con agua destilada. Los extractos se leyeron en un espectofotómetro de absorción atómica marca GBC®. En el caso de Cd las muestras fueron leídas a una longitud de onda de 228 nm y para el Pb de 217 nm. En ambos casos se utilizaron lámparas especiales para cada elemento. De cada muestra se tomaron tres submuestras que fueron leídas por triplicado. Se utilizaron muestras blanco al momento de realizar las curvas de calibración. Adicionalmente se incluyeron muestras con concentraciones conocidas para asegurar que dicho valor, estimado mediante el modelo de regresión, fuera igual que el valor ya conocido.

### Análisis estadísticos

Se realizaron análisis de varianza y pruebas de separación de medias de Tukey con el programa estadístico SAS V.9 para Windows® (Castillo-Márquez 2004). Las variables analizadas fueron las concentraciones de Pb y Cd en cada uno de los

tercios en los que fueron divididas las plantas de las diferentes especies mencionadas en el trabajo y la concentración de estos mismos metales en cada uno de los sitios de muestreo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Concentración de Cd y Pb en suelos

Los suelos mostraron concentraciones de Cd estadísticamente iguales ( $\bar{x} = 0.07$  mg/kg), sin importar el cultivo que creció sobre ellos. Esta misma tendencia se observó en el caso del Pb en donde los valores mostrados por los suelos fueron similares ( $\bar{x} = 0.40$  mg/kg). En el caso de los suelos cultivados con alfalfa, se registraron valores de Cd más bajos que los presentes en algunos tercios vegetales evaluados (**Cuadro II**). Los valores bajos de Cd en suelos donde crecían plantas de alfalfa se puede relacionar con la capacidad de la planta para acumular este elemento sin sufrir daños fisiológicos, por ejemplo Peralta-Videa *et al.* (2002) demostraron que las plantas de alfalfa son capaces de germinar y crecer en suelos contaminados intencionalmente con 80 mg/kg de Cd, Cu y Ni. Debido a que esta especie es capaz de acumular metales en sus tejidos (Peralta-Videa *et al.* 2004) la concentración de estos elementos en el suelo podría bajar. Este fenómeno lo han observado otros autores como Bonfranceschi *et al.* (2009) que estudiaron la capacidad de extracción de metales pesados de plantas de alfalfa y sorgo en condiciones controladas y encontraron que la alfalfa no solamente es capaz de crecer en presencia de altas concentraciones de Cd sino de traslocar este metal a la parte aérea. Este fenómeno podría ser el responsable de observar valores más bajos de Cd en suelos donde creció alfalfa en relación con suelos donde crecieron plantas de maíz o de girasol.

### Concentración de Cd y Pb en plantas

Los suelos en los que se cultivó maíz mostraron valores de Cd más elevados que los encontrados en la planta. En el primer y segundo tercio de las plantas de maíz la concentración de Cd fue igual estadísticamente. Por otro lado la cantidad de Cd en las brácteas y semillas fueron similares a las encontradas en el resto del tejido vegetal. Los resultados anteriores sugieren que las plantas de maíz tienen una capacidad limitada para la absorción de Cd debido a que la concentración de éste en el suelo fue mayor en relación con las concentraciones encontradas en la planta (**Cuadro II**). Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Florijn y Van Beusichem (1993)

**CUADRO II. CONCENTRACIÓN DE Cd Y Pb (mg/kg DE PESO SECO) EN CULTIVOS IRRIGADOS CON AGUAS RESIDUALES EN EL VALLE DEL MEZQUITAL HIDALGO, MÉXICO**

	Maíz variedad “Caimán”				Maíz variedad “Ocelote”				Alfalfa variedad “San Miguel 1”, “San Miguel 2”				Girasol			
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Suelo	0.096 a	0.480 a	0.093 a	0.42 a	0.030 b	0.453 a	0.035 b	0.051 a	0.103 a	0.613 a	—	—	—	—	—	—
Primer tercio	0.060 bc	0.260 ab	0.053 b	0.30 ab	0.076 a	0.236 ab	0.076 a	0.393 a	0.000 c	0.026 c	—	—	—	—	—	—
Segundo tercio	0.063 b	0.230 b	0.001 b	0.26 b	0.01 b	0.000 b	0.080 a	0.400 a	0.013 c	0.000 c	—	—	—	—	—	—
Tercer tercio	0.060 bc	0.273 ab	0.010 b	0.24 b	0.07 a	0.326 a	0.006 c	0.05 b	0.070 b	0.316 b	—	—	—	—	—	—
Semillas	0.043 c	0.196 b	0.036 b	0.22 b	—	—	—	—	—	—	0.007 c	0.000 c	—	—	—	—
Hoja mazorca	0.056 c	0.230 b	0.042 b	0.25 b	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

† Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $P=0.05$ ).

quienes observaron que algunas líneas endogámicas de maíz mostraron la capacidad de excluir al Cd de su parte aérea al mostrar concentraciones bajas de este metal en los exudados del xilema. Esta capacidad de la planta se relaciona con la concentración de Cd que logra ingresar a las raíces. Por otro lado las plantas que carecen de la capacidad de excluir al Cd de la

parte aérea muestran elevadas concentraciones del metal en la raíz. De acuerdo con los conocimientos actuales, las plantas no poseen mecanismos de transporte específicos para nutrientes no esenciales como Cd<sup>2+</sup>. Sin embargo, el transporte a lo largo de toda la planta ocurre a través de los mismos sistemas que utilizan los cationes esenciales (Verkleij *et al.* 2009). En el caso específico del Cd<sup>2+</sup> los datos disponibles indican que este metal utiliza los mismos sistemas de transporte que el Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Ca<sup>2+</sup> (Antosiewicz *et al.* 2008). Incluso investigaciones más recientes han encontrado las secuencias de genes que se expresan en plantas de alfalfa sometidas a concentraciones elevadas de Cd<sup>2+</sup> (Wang *et al.* 2011). En cuanto al Pb, los valores en el suelo fueron estadísticamente iguales a los que se observaron en el primer y tercer tercio de la planta. Asimismo las semillas y las brácteas mostraron valores similares a los observados en toda la planta. Al igual que con el Cd, las concentraciones de Pb fueron menores en la planta en relación con las encontradas en el suelo. Sin embargo, después de que el Pb ingresa a la planta éste se transporta a todos los órganos vegetales. El fenómeno de absorción y transporte de cationes es posible debido a que la mayoría de las plantas contienen genes que codifican familias de proteínas capaces de transportar metales a toda la planta (Colangelo y Guerinot 2006). En el caso específico del Pb se han encontrado proteínas ATP-asas que utilizan la energía derivada de la hidrólisis del ATP para transportar cationes a través de las membranas y a toda la planta (Williams y Mills 2005). Un ejemplo son las proteínas HMA1-HMA4 que transportan cationes divalentes como Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> y Co<sup>2+</sup> (Cobbett *et al.* 2003). Es posible que las variedades de maíz que se cultivan anualmente en la región del Valle del Mezquital tengan los genes que codifican proteínas similares, lo cual explicaría la presencia de metales pesados en la parte superior de las plantas que fueron evaluadas en este trabajo.

Por otro lado las plantas de alfalfa mostraron concentraciones superiores de Cd en el primer y tercer tercio en comparación a las del suelo de la variedad “San Miguel Criolla 1”, mientras que de la variedad “San Miguel Criolla 2” el primer y segundo tercio mostraron una mayor concentración de este metal. Es posible que el comportamiento anterior se deba a que la alfalfa posee una gran capacidad para acumular algunos metales pesados. De hecho desde hace varios años algunos autores han reportado este fenómeno como Chaney *et al.* (1998), que mencionan que la alfalfa absorbe una gran cantidad del ión Cl y éste forma un complejo con el Cd lo cual posiblemente ayuda a la asimilación de este metal. Adicionalmente

investigaciones más recientes muestran que las plantas de alfalfa acumulan la mayor parte del Cd en la raíz y traslocan sólo un 26 % del total absorbido a la parte aérea (Peralta-Videa *et al.* 2004).

En el presente trabajo las plantas de alfalfa mostraron 1.58 veces más Cd que el suelo. En contraste, en las plantas de maíz la concentración del suelo fue 2.3 veces superior que en cualquiera de los tres tercios de las plantas. El Pb no mostró este mismo comportamiento ya que en las plantas de alfalfa (sin importar el tercio evaluado), la concentración de Pb en el suelo fue muy similar a la encontrada en la planta. A pesar de que la absorción de Cd y Pb por las plantas estudiadas debería ocasionar en teoría una disminución en el contenido de estos metales en el suelo, este fenómeno no ocurre porque el riego (y por lo tanto el aporte de metales pesados al suelo) ocurre cada 15 días en la región en donde se realizó el estudio. De las tres especies de plantas evaluadas, el girasol mostró una menor capacidad para asimilar metales pesados. Las concentraciones de estos metales en los tres tercios del girasol fueron inferiores a las encontradas en el suelo, incluso llegaron a ser indetectables en algunas muestras (Cd primer tercio y Pb segundo tercio y semillas). Lo anterior resulta contradictorio a lo encontrado en otras investigaciones en las que se ha reportado que esta especie es efectiva para la absorción de algunos elementos como Cd, Cr y Co (Kötschau *et al.* 2014). Es posible que la absorción de estos elementos esté determinado no solamente por la especie vegetal sino por factores externos como la temperatura. En ese sentido Sun y Shi (1998) mostraron que la absorción de Cu, Zn y Cd disminuye cuando se expone a la planta a altas temperaturas. Esta condición climática ocurre con frecuencia en las fechas en las que se encuentra en desarrollo vegetativo el girasol (marzo a julio) con temperaturas superiores a 32 °C. Es probable que por esta razón la asimilación de Cd y Pb observada en las plantas fuera menor en comparación con las demás especies vegetales estudiadas.

## CONCLUSIONES

Las plantas de maíz y alfalfa mostraron una concentración de metales pesados igual o mayor a la encontrada en el suelo en el que se cultivaron, lo que sugiere la posibilidad de que estos metales sean transportados desde el suelo hasta los diferentes órganos de las plantas. Lo contrario se obtuvo en el girasol cuya concentración de metales pesados fue inferior a la del suelo, lo cual es un indicador de que esta planta no fue capaz de traslocar metales. Es

posible que la causa de este fenómeno tenga que ver con las condiciones climáticas de la zona y no con la especie vegetal.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Jatsi & Kueponi S.A de C.V. por el apoyo logístico así como por el financiamiento parcial otorgado a la presente investigación mediante el proyecto J&K 0070.

## REFERENCIAS

- Antosiewicz D. M., Sirk A. y Sowifiski P. (2008). Trace element transport in plants. En: Trace elements as contaminants and nutrients. (D. M. Antosiewicz, Ed.) John Wiley and Sons, Inc. Hoboken, EUA, pp. 413-438.
- Bonfranceschi B.A., Flocco C.G. y Donati E.R. (2009). Study of the heavy metal phytoextraction capacity of two forage species growing in an hydroponic environment. J. Hazard. Mater. 165, 366-371.
- Castillo L.E. (2004). Introducción al SAS para Windows. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 241 pp.
- Chaney R. F., Brown S. L. y Angle J. S. (1998). Soil-root interface: ecosystem health and human food-chain protection. En: Soil chemistry ecosystem health. (P. M. Huang, Ed.). Soil Science Society of America. Madison, EUA, pp. 79-311.
- Cobbett C. S., Hussain D. y Haydon M. J. (2003). Structural and functional relationships between type 1B heavy metal-transporting P-type ATPases in Arabidopsis. New Phytol. 159, 315-321.
- Colangelo E. P. y Guerinot M. L. (2006). Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. Curr. Opin. Plant Biol. 9, 322-330.
- Dushenkov V., Pban K., Motto H. y Raskin I. (1995). Rhicrofiltration: The use of plant to remove heavy metals from aqueous streams. Ind. Eng. Chem. Res. 29, 1239-1245.
- Faisal M. y Hasnain S. (2004). Microbial conversion of Cr(vi) into Cr(iii) in industrial effluent. Afr. J. Biotechnol. 3, 1684-5315.
- Florijn P. J. y Van Beusichem M. L. (1993). Uptake and distribution of cadmium in maize inbred lines. Plant. Soil. 150, 25-32.
- Gisbert G., Ros R., Haro A. D., Walker D. J., Bernal M. P. y Serrano R. (2003). A plant genetically modified that accumulates Pb is especially promising for phytoremediation. Biochem. Biophys. Commun. 5, 303-440.
- Graterol M. B. (2006). Procesos relevantes de degradación de ecosistemas en la guayana venezolana. revista Digital

- CENIAP HOY 12, 1-12 [en línea]. [http://sian.inia.gob.mx/repositorio/revistas\\_tec/ceniaphoy/articulos/n12/arti/graterol\\_b.htm](http://sian.inia.gob.mx/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n12/arti/graterol_b.htm).
- Grytsyuk N., Arapis G., Perepelyatnikova L., Ivanova T. y Vynograds'ka V. (2006). Heavy metals effects on forage crops yields and estimation of elements accumulation in plants as affected by soil. *Sci. Total Environ.* 354, 224-231.
- Järup L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Brit. Med. Bull.* 68, 167-182.
- Kötschau A., Büchel G., Einax J. W., Meißner R., Tümping W V. y Merten D. (2014). Element pattern recognition and classification in sunflowers (*Helianthus annuus*) grown on contaminated and non-contaminated soil. *Microchem. J.* 114, 164-174.
- Landero-Figueroa J. A., Wrobel K., Afton S., Caruso J. A., Gutierrez-Corona J. F. y Wrobel K. (2008). Effect of some heavy metals and soil humic substances on the phytochelatin production in wild plants from silver mine areas of Guanajuato, Mexico. *Chemosphere* 70, 2084-2091.
- Peralta-Videa J. R., De La Rosa G., Gonzalez J. H. y Gardea-Torresdey J. D. (2004). Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Adv. Environ. Res.* 8, 679-685.
- Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey J. L., Gómez E., Tiemann K. J., Parsons J G. y De La Rosa G. (2002). Potential of alfalfa plant to phytoremediate individually contaminated montmorillonite soils With Cd(II), Cr(VI) Cu(II), Ni(II) and Zn(II). *B. Environ. Contam. Tox.* 69, 74-81.
- Sun G. y Shi W. (1998). Sunflower stalks as adsorbents for the removal of metal ions from wastewater. *Ind. Eng. Chem. Res.* 37, 1324-1328.
- Verkleij A. C. Golan-Goldhirsh A., Antosiewisz D. M., Schwitzguébel J., Schröder P. (2009). Dualities in plant tolerance to pollutants and their uptake and translocation to the upper plant parts. *Environ. Exp. Bot.* 67, 10-22.
- Wang X., Ma Y. y Zhuo R. (2011). Screening of Cd tolerant genotypes and isolation of metallothionein genes in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Environ. Pollut.* 159, 3627-3633.
- Williams L. E. y Mills R. F. (2005). P(1B)-ATPases-an ancient family of transition metal pumps with diverse functions in plants. *Trends Plant Sci.* 10, 491-502.
- Yasuda M., Miwa A. y Kitagawa M. (1995). Morphometric studies of renal lesions in “Itai-itai” disease: chronic cadmium nephropathy. *Nephron* 69, 14-19.