

Nota Técnica

ACUMULACIÓN DE ARSÉNICO EN EL CULTIVO DE HABAS (*Vicia faba*)

Francisco Prieto García^{1/}*; Judith Callejas Hernández*; Alma D. Román Gutiérrez*;
Judith Prieto Méndez*; Alberto J. Gordillo Martínez*; María A. Méndez Marzo**

Palabras clave: arsénico, bioacumulación, órganos, tóxico, daños.

Keywords: arsenic, bioaccumulation, organs, toxic, damage.

Recibido: 01/02/2007

Aceptado: 29/08/2007

RESUMEN

La presencia de arsénico en aguas y suelos de Zimapán, en el estado de Hidalgo, México, causa que los cultivos de haba presenten concentraciones apreciables de dicho elemento. Los suelos evaluados presentaron texturas, conductividad, contenidos de N y de arsénico diferentes, pero resultados similares en pH, potencial redox, y contenido de materia orgánica. La elevada bioacumulación de arsénico en estos suelos fue directamente proporcional al tiempo de exposición. Las concentraciones de arsénico acumuladas más altas se obtuvieron en la raíz, el tallo, y las hojas, respectivamente. Concentraciones de 4 mg l⁻¹, fueron letales para el cultivo; el fenómeno se apreció a partir de la etapa III de desarrollo, con la aparición de daños en las raíces y un fuerte efecto en la floración, que inhibió la formación de vainas.

ABSTRACT

Arsenic accumulation in faba beans (*Vicia faba*) crops. The arsenic present in water and soils of Zimapan, state of Hidalgo, Mexico, is causing an appreciable concentration of this element in faba beans crops. Evaluated soils showed different textures, conductivity, as well as N and arsenic contents, but similar pH, redox potential, and organic matter. Arsenic bio-accumulation, during the crop's growth stages, was proportional to exposition time. The highest accumulated arsenic concentrations were detected in roots, stems, and leaves, respectively. Concentrations of 4 mg l⁻¹ were lethal. Damaged roots and flowering problems were observed from the third growth stage on. Flowering problems lead to no pod production.

INTRODUCCIÓN

La acumulación de metales pesados en tejidos vegetales, por adsorción u otras formas de asociación natural, incluida la bioacumulación, da origen a que se conviertan en formas accesibles a los seres humanos y animales a través de productos de consumo (Prieto García *et al.* 2005a). Se puede decir que la toxicidad o actividad biológica de un elemento en particular,

sus mecanismos de transporte y propagación, así como su movilidad o capacidad reaccionante, pueden variar drásticamente dependiendo de la forma química en que se encuentre y las concentraciones permisibles (Kabata-Pendias y Pendias 2000). En general, la absorción de metales traza por las plantas, se ve afectada por el tipo de cultivo y los factores del suelo. Entre los factores más significativos, se puede señalar el pH, el potencial redox (Eh), el contenido de materia orgánica

1/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: prietog@uaeh.reduaeh.mx

* Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

** Centro de Investigaciones en Materiales y Metalurgia. Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, C.P. 42076, Pachuca, Hidalgo, México.

(MO), la capacidad de intercambio catiónico (CIC), el régimen del agua (riegos), el contenido de arcilla (textura), y el balance y concentración de nutrimentos (Kabata-Pendias y Pendias 2000, Garrido *et al.* 2005). También las condiciones climáticas parecen influir en la absorción, generalmente la temperatura ambiental participa en la absorción de elementos traza en la planta (Prieto García *et al.* 2005a).

Algunos elementos son más susceptibles a ser fitodisponibles que otros (Kabata-Pendias y Pendias 2000, Garrido *et al.* 2005), en este trabajo se evalúa la bioacumulación de arsénico por los órganos de la planta en las diferentes etapas del desarrollo del cultivo de habas (*Vicia faba* L.), cabe aclarar que en este cultivo se reporta evaluaciones similares de otros elementos metálicos, pero no sobre la bioacumulación de arsénico (Garrido *et al.* 2005). Debido a su toxicidad, este elemento es un contaminante importante de cultivos, aunque es absorbido por las plantas verdes, en concentraciones similares a las encontradas en los suelos donde son cultivados (O'Neill 1990)

Se reporta que en algunos casos, niveles tan bajos como de 0,7 mg kg⁻¹, pueden reducir el rendimiento de los cultivos en un 50% (Peterson y Girling 1980). Gómez *et al.* (1997), indican que mediante estudios de dieta total (EDT) se puede determinar el nivel de ingesta del arsénico. En un EDT para el período 1990/95, la ingesta de este elemento fue estimada, a partir de su determinación en 16 grupos con dieta, que fueron sometidos a estas evaluaciones.

Las habas son dicotiledóneas anuales, pertenecientes a la familia de las papilionáceas; su período vegetativo puede ser hasta de 7 meses dependiendo de la variedad. Es posible distinguir 3 variedades botánicas, las cuales se diferencian fundamentalmente por el tamaño de sus semillas (Bianco y Pimpini 1990): *Vicia faba* L. var. *minor*, con semillas pequeñas de forma elipsoidal, vainas cilíndricas y 3-4 semillas; *Vicia faba* L. var. *equina* Pers., con semillas medianas, de forma aplastada, vainas, de tamaño intermedio con una dehiscencia moderada y 3-4 semillas; y *Vicia faba* L. var. *major*, es la más usada para

consumo en verde, sus semillas son grandes, sus vainas indehiscentes con 3-4 semillas.

Zimapán estado de Hidalgo, México, se encuentra ubicado dentro del distrito minero del mismo nombre, en la región hidrológica RH-26 del Pánuco, parte Norte de la Cuenca del Valle de México, y pertenece a la Sub-cuenca del Río Moctezuma (Figura 1). Los contenidos de As natural en sus suelos resultan evidentes, debido a la presencia de minerales como: arsenopirita, FeAsS o FeS₂.FeAs₂; Rejalgar, As₂S₂; Oropimento, As₂S₃; Loellingita, FeAs₂; y Tennantita, Cu₁₂As₄S₁₃, entre otros (Pérez *et al.* 2006). También, las actividades mineras, para la extracción de metales valiosos de los recursos minerales de la zona (Galvão y Corey 1989), pueden traer como consecuencia un incremento en el contenido de As en las aguas de los pozos, norias y manantiales de la región, rebasando los límites máximos de <0,01 mg l⁻¹ permitidos por la norma oficial mexicana (NOM) (NOM 1994). La población que actualmente se estima en los 42000 habitantes, se encuentra afectada por este elemento (Pérez *et al.* 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomó una muestra de suelo del poblado El Salitre (Figura 1), que se denominó suelo de Zimapán (SZ). En el mismo, los contenidos de As oscilan entre 10,45-13,58 mg kg⁻¹ (Prieto García *et al.* 2005b). El área total fue de 180 m², considerando una profundidad de 30 cm de suelo (capa arable). En iguales cantidades, se tomó muestras de suelo no contaminadas por As, en el poblado de Huaxtho del municipio Actopan, que se denominaron suelo de Actopan (SA). Todas las muestras de suelo fueron sometidas a secado a temperatura ambiente, homogeneización y cuarteo, para el llenado de 25 macetas. Las semillas de haba (*Vicia faba*) utilizadas, fueron de la variedad *major*, adquiridas en el Instituto de Ciencias Agropecuarias de Hidalgo (ICAP).

También se sometió a análisis de control, el agua utilizada para el riego de las macetas; se

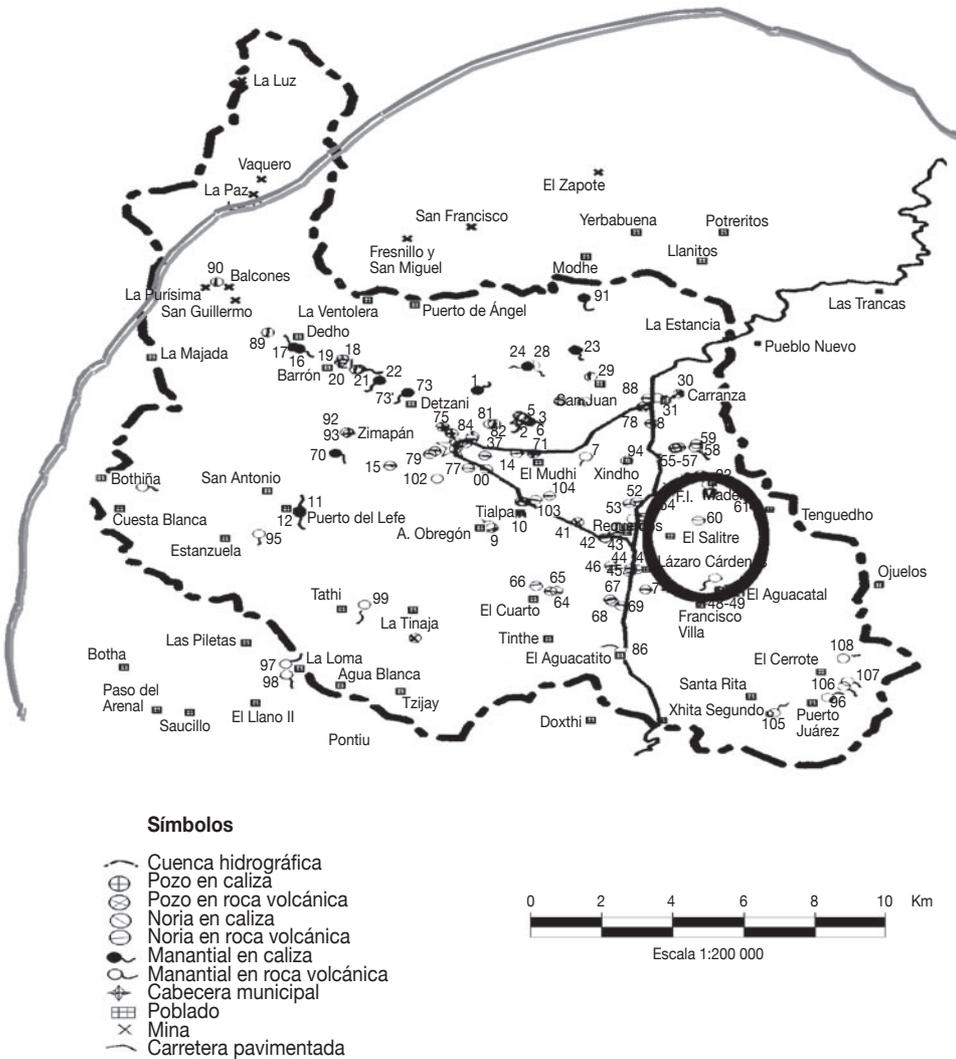


Fig. 1. Ciudad de Zimapán, Hidalgo, pertenece a la región hidrológica RH-26 del Pánuco, parte Norte de la Cuenca del Valle de México, Sub-cuenca del Río Moctezuma. Línea en color gris: Zona limítrofe en la parte Norte de la Cuenca del Valle de México. Círculo negro: Zona de estudio Pérez *et al.* (2003).

utilizó agua del distribuidor general de Zimapán (agua de Zimapán, AZ) y agua de pozo de Pachuca (agua de Pachuca, AP); la primera con contenidos de As de 0,4 mg l⁻¹ y la segunda sin el elemento. Como control positivo (experimento E), se utilizó AP contaminada con As (agua contaminada, AC) por adición de HAsO₄²⁻ en concentración 10 veces superior a las AZ (4,0 mg l⁻¹). A los suelos se les

realizó los análisis según NOM (2000) y a las aguas según NOM (1994). Los riegos se realizaron 2 veces al mes con adiciones de 500 ml de agua por maceta. El montaje de las macetas se realizó de manera tal que las 25 macetas quedaron ubicadas en un bloque de 5x5 donde las hileras correspondieron a los tratamientos (A a E) y las filas a las repeticiones, cada maceta con 5 semillas.

Las determinaciones de As se realizaron por triplicado en muestras de agua (AZ y AP) de 100 ml, preservadas en matriz de ácido nítrico al 3%. Se les realizó una prerreducción y luego se analizaron por espectroscopía de absorción atómica, con generación de hidruros, en un espectrofotómetro marca Varian modelo SpectrAA 880. Para la prerreducción, a 10 ml de agua se le agregó 2 ml de ácido clorhídrico concentrado, 2 ml de KI al 25% y 2 ml de ácido ascórbico al 25%, con posterior aforo a 50 ml con agua desionizada. La generación de hidruros se realizó con borohidruro de sodio al 0,6% en NaOH al 0,5% y HCl 5,0 M (ASTDR 1993, Báez Ramírez *et al.* 2004). Además se analizó la concentración de As en la fase acuosa de los lixiviados que se recogieron debajo de cada maceta durante los riegos.

Las muestras de suelo (SZ y SA) y de órganos (raíz, hoja, tallo, flor, vaina y grano) previamente secados, con un peso promedio de 0,2 g se sometieron a digestión con 5 ml de ácido nítrico concentrado en horno de microondas (CEM modelo MARSX). Se trabajó a 170 PSI de presión máxima, 200°C, 10 min para equilibrar la presión y temperatura, 5 min de digestión y 5 min de enfriamiento; posteriormente se hizo la prerreducción del digestato y las determinaciones de As correspondientes según lo descrito. Todas las determinaciones fueron realizadas por quintuplicado y se estimaron las medias y las desviaciones estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis físico-químico de los suelos indicó que ambos suelos presentaron un pH moderadamente alcalino, son reductores

intermedios (Eh), y muestran contenidos medios de MO, según la clasificación de Kabata-Pendias y Pendias (2000). Difieren en su conductividad eléctrica (CE), humedad, textura y contenido de arsénico (Cuadro 1). Los contenidos de As en las semillas de haba fueron despreciables (0,0138 mg kg⁻¹). Los resultados del análisis del agua reflejaron características similares en pH, potencial redox (Eh) y conductividad, pero se diferencian en los contenidos de As, donde el AZ rebasa la norma oficial mexicana unas 40 veces (NOM-2000, ASTDR 1993) y la establecida por la OMS (Pérez *et al.* 2003) (Cuadro 2).

Valores de pH moderadamente alcalinos en el agua pueden favorecer la absorción del As lo que incrementa la concentración total de As disponible para los cultivos. También, los contenidos medios de MO favorecen la migración del As, al formar complejos organometálicos estables en medios acuosos (O'Neill 1990, Gómez *et al.* 1997). Los resultados de As en las semillas indicaron que estaban prácticamente libres de este contaminante, por tanto fueron válidas para el experimento. A pesar de que en México no está normado el

Cuadro 2. Análisis fisicoquímicos de agua. Entre paréntesis se indica los valores de desviación estándar (n=5).

Parámetro	Agua de Pachuca (AP)	Agua de Zimapán (AZ)
pH	8,4 (14,0)	7,5(1,0)
Eh (mV)	-86,2 (2,0)	-61,6 (3,0)
Conductividad (dS cm ⁻¹)	0,69 (10,91)	0,52 (6,0)
As mg l ⁻¹	< L.D.	0,40 (0,05)

Cuadro 1. Análisis fisicoquímicos de los suelos. Entre paréntesis se indican los valores de desviación estándar (n=5).

Suelo	pH	Eh (mV)	CE (dS m ⁻¹)	%MO	% N total	[As] mg kg ⁻¹	% Humedad	Textura (%)	
								Arcilla	Arena
Actopan	8,14 (0,05)	-81,84 (1,27)	2,38 (0,19)	2,27 (0,22)	0,78 (0,31)	1,66 (0,11)	19,08 (0,19)	26 (2)	42 (2)
Zimapán	7,90 (0,04)	-70,34 (2,18)	0,22 (0,02)	1,70 (0,17)	0,14 (0,04)	12,74 (0,32)	6,33 (0,10)	7 (1)	73 (3)

contenido de As permisible en granos y semillas, según la normativa Argentina, semillas con $<0,2$ As mg kg^{-1} se pueden considerar como libres del metal (Normativa Argentina 2004)

En la figura 2 se indica los niveles de bioacumulación de As en la etapa I del desarrollo del haba, etapa de germinación. Se resaltan los niveles de acumulación en raíces, semilla y la primera hoja, así como la concentración de As en el agua y el sistema agua-suelo. Se puede apreciar que en el experimento A, suelo de Zimapán (SZ), regado con agua de Zimapán (AZ) y en el experimento C, suelo de Actopan (SA), regado con AZ, se muestran los índices de acumulación de As más elevados, lo que pone de manifiesto que este elemento está disponible en las aguas, en forma de HAsO_4^{2-} , según reportan Pérez *et al.* (2003) y Báez-Ramírez *et al.* (2004) de manera preferencial para la etapa I del desarrollo. En el experimento E, SZ regado con agua contaminada (AC), es evidente el elevado nivel de As acumulado tanto en la raíz, como en la semilla y la primera hoja (coleoptilo); es importante recordar que la concentración de As en el AC es 10 veces superior al AZ, proporción que se aprecia entre los experimentos A, C y E. También, es apreciable

la concentración de As en la semilla que queda como remanente durante esta etapa de germinación. Debe recordarse que la semilla inicialmente requiere de un 40% de absorción del agua en esta etapa (Bianco y Pimpini 1990).

Para la etapa II del desarrollo de este cultivo, formación del epicotilo, se observan las mismas tendencias anteriores en los experimentos A, C y E, es destacable que en esta etapa, con la aparición del tallo, aumenta la acumulación de As en éste (Figura 3).

Ya en la etapa III de formación de la macolla (hojas y tallos verdaderos), la semilla ha desaparecido totalmente. Nuevamente los experimentos A, C y E son los que presentan una mayor acumulación de As (Figura 4).

En esta etapa sobresale el nivel de bioacumulación de As en el tallo en los experimentos C y E, reafirmando que el As disponible en el agua es el preferencial para esta etapa. El tallo es el órgano que sirve de conducto para transportar todos los nutrimentos en la planta y con estos los contaminantes en el medio acuoso. La raíz en los experimentos A y E también mostró un elevado índice de bioacumulación de As y se observó cierto nivel de daño y formación de tumoraciones

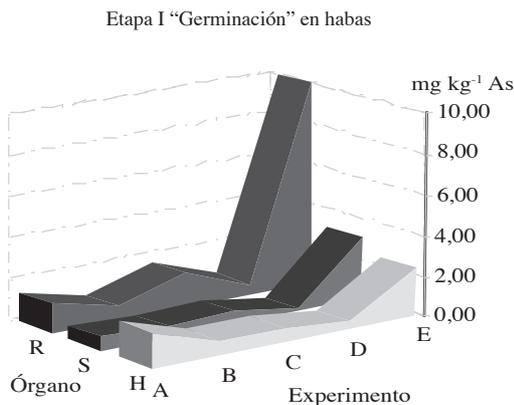


Fig. 2. Bioacumulación de arsénico por órgano en la I etapa del desarrollo: germinación. A, B, C, D y E representan los tratamientos. R: raíz; S: semilla; H: hoja.

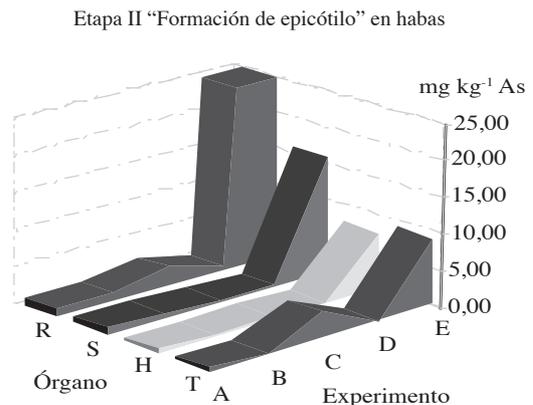


Fig. 3. Bioacumulación de arsénico por órgano en la etapa II del desarrollo: formación del epicotilo. A, B, C, D y E representan los tratamientos. R: raíz; S: semilla; H: hoja; T: tallo.

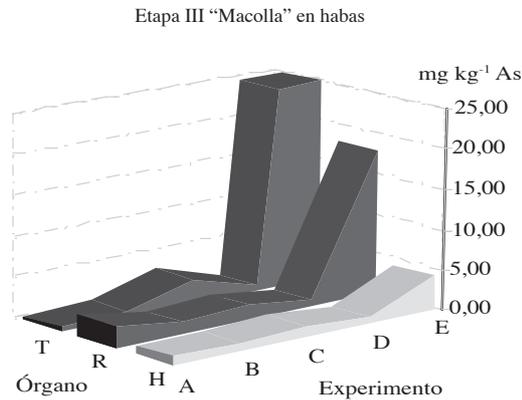


Fig. 4. Bioacumulación de arsénico por órgano en la etapa III del desarrollo: formación de la macolla. A, B, C, D y E representan los tratamientos. R: raíz; H: hoja; T: tallo.



Fig. 5. Raíces en el experimento A. A partir de la etapa III y siguientes se apreció la formación de tumoraciones.

en las mismas, tal como se aprecia en la figura 5. Dichas tumoraciones son diferentes de los nódulos donde se fija N.

Para la etapa IV, etapa de floración, se observa en la figura 6 que los experimentos A y C mostraron la mayor acumulación de As tanto en raíz como en hoja, tallo y flor. En el experimento E, control positivo, de igual forma resultaron elevados los niveles de bioacumulación en tallo, raíz y hojas; sin embargo, ya no se tuvo floración, es decir no llegaron a desarrollarse o formarse apropiadamente las flores, por cuanto se secaban apenas comenzaban a brotar. Esto da origen a la no formación de vainas en la V y última etapa del desarrollo de este cultivo, en las condiciones del experimento E, lo cual es indicativo del nivel letal de concentraciones de As superiores a 4 mg kg⁻¹ para el cultivo de habas.

La figura 7 muestra la etapa V de desarrollo del cultivo, etapa de llenado de granos; es decir ya formadas las vainas, sigue el llenado de granos, quedando listos para su recolecta. Se puede observar la ausencia de As en las condiciones del experimento E, esto es debido a la concentración letal del As adicionado que propició la muerte drástica del cultivo. Durante esta etapa los niveles de bioacumulación de As

en las condiciones del experimento A, resultaron elevados en raíces pero además en granos y flores, lo que evidencia la fácil migración de las especies arsenicales en el medio acuoso hasta estos órganos. Es importante señalar que los índices de As acumulados en los granos variaron entre 1,0-3,9 mg kg⁻¹, unas 5-20 veces más que lo permitido según la Norma Argentina (2004). También se puede notar que en las condiciones

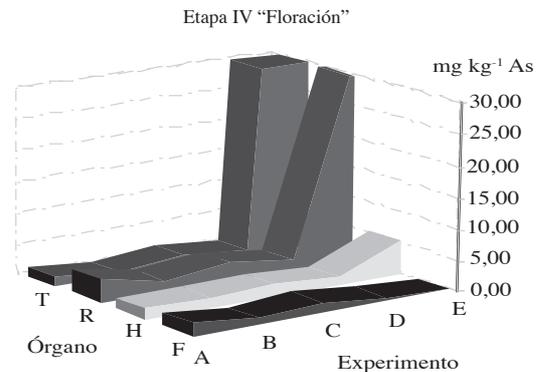


Fig. 6. Bioacumulación de arsénico por órgano en la etapa IV del desarrollo: floración. A, B, C, D y E representan los tratamientos. R: raíz; H: hoja; T: tallo; F: flores.

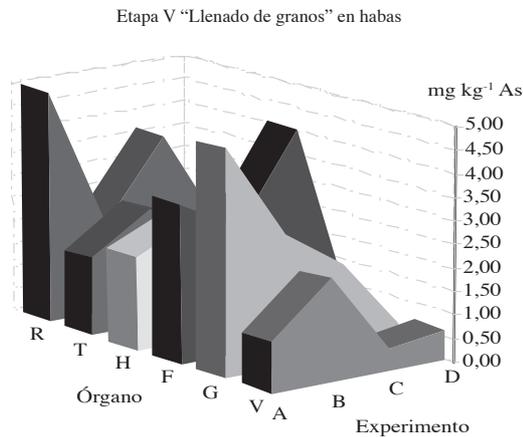


Fig. 7. Bioacumulación de arsénico por órgano en la V y última etapa del desarrollo: llenado de granos. A, B, C y D representan los tratamientos. R: raíz; H: hoja; T: tallo; F: flores; G: granos; V: vaina.

del experimento B (incidencia del As presente en el suelo y que es lixiviable), los niveles de As en el tallo y las hojas, así como en las vainas y los granos también resultan ser elevados; esto puede ser indicativo de que las formas lixiviables de As presentes en suelos, pueden pasar a estos órganos, pero de manera más lenta.

Del daño observado en las plantas bajo las condiciones del experimento E, se consideró que se produce una cierta inhibición en el crecimiento y desarrollo del cultivo, que se manifiesta drásticamente a partir de la etapa III. Esto se convierte en un indicativo del efecto tóxico del As.

Se realizó la evaluación de las características físicas del cultivo, en la etapa final, por cada experimento, en comparación con las características físicas del cultivo bajo condiciones normales.

En el cuadro 3 se muestra el nivel de comparación y se puede apreciar el resultado en el experimento E o control positivo y las diferencias en los experimentos A, B y C, comparados con las características del cultivo en condiciones normales. Obviamente, solo son comparables los resultados obtenidos en el control negativo o experimento D con el cultivo normal de habas.

Los daños causados en la ramificación de las raíces y el tamaño o altura del tallo de la planta, ponen de manifiesto otros de los efectos que puede provocar la presencia de As en tejidos vivos, como son el raquitismo o daños al crecimiento (Prieto *et al.* 2006). También es evidente la disminución en número de macollas, coloración de las hojas, la floración y el número de vainas planta⁻¹ y de granos vaina⁻¹. Los resultados

Cuadro 3. Comparación de resultados en la etapa final para los diferentes experimentos, con el cultivo en condiciones normales.

	A	B	C	D	E	Condiciones típicas del cultivo*
Ramificación en raíz	Media	Abundante	Media	Abundante	☠	Abundante
Macollas	3-4	3-4	3-4	4-5	☠	4-5
Altura del tallo	55-60 cm	60-70 cm	55-60 cm.	80-90 cm	☠	80-120 cm
Hojas	Verde grisáceo manchas color café	Verde grisáceo manchas color café	Verde grisáceo manchas color café	Verde grisáceo	☠	Verde grisáceo
Floración	Baja 2	Media 2-3	Baja 2	Abund. 4	☠	3-4 nudo ⁻¹
N.º vainas planta ⁻¹	4	5	4	9-10	☠	10-15
N.º granos vaina ⁻¹	2	2	2	4	☠	3-5

☠ Muerte de la planta. *O'Neill (1990).

del experimento D, como control negativo, son los que se aproximan a los resultados finales del cultivo en condiciones normales, a pesar de que este estudio fue realizado en macetas. El experimento E conllevó a la drástica eliminación y muerte del cultivo.

CONCLUSIONES

El cultivo de habas presenta una elevada bioacumulación de As en sus etapas de desarrollo, a pesar de tener un período vegetativo relativamente corto (máximo 7 meses).

A partir de la etapa III y en adelante, las concentraciones de As bioacumuladas llegan a ser lo suficientemente elevadas como para provocar daños en el crecimiento y desarrollo del cultivo. Este cultivo puede servir como indicador biológico de la contaminación de suelos por As.

En la raíz del cultivo se presentan las concentraciones de As acumuladas más altas seguidas por las hojas y el tallo. En las raíces se producen daños de malformaciones a ciertos niveles de As bioacumulados.

AGRADECIMIENTO

Al fideicomiso que financió esta investigación bajo el proyecto CONACYT-SAGARPA-2004-C01-2.

LITERATURA CITADA

- ASTDR 1993. Toxicological profile for lead. US Dept. of Health and Human Services, Agency for Substances and Disease Registry, Atlanta, GA.
- BÁEZ RAMÍREZ A., PRIETO GARCÍA F. GALÁN VIDAL C. A. 2004. Bioacumulación y daños genotóxicos en Pez Cebra (*Danio rerio*) por arsénico en aguas de Zimapán, Hidalgo (México). Revista AquaTIC, España 21:62-70.
- BIANCO V.V., PIMPINI F. 1990. Orticultura. Patron Editore, Bologna, Italia. p. 991.
- GALVÃO L.A.C, COREY G. 1989. Arsénico. Serie Vigilancia 3. ed. Centro Panamericano de Ecología humana y Salud. OPS y OMS. p. 70.
- GARRIDO G., MARTÍN M.V., ESTELLER R., VACA J., LUGO J. 2005. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effect on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba L.*). Water, Air, & Soil Pollution 166(1-4):303-319.
- GÓMEZ M., URIETA I., MACHO M.L., AZPIRINI M. 1997. Vigilancia de la contaminación química de los alimentos en la comunidad autónoma del País Vasco 1990-1995. Servicio Central de publicaciones del gobierno Vasco, Ed. Victoria Gastéiz, España, p. 32-41.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 2000. Trace elements in soils and plants, CRC LLC, 3^a ed, USA, p. 27.
- NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis. Diario Oficial de la Federación del 14 de febrero de 2001. p. 17.
- NOM-127-SSA1-1994 Norma Oficial Mexicana (Revisión 2000). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse para su potabilización. Diario Oficial de la Federación del 18 de enero de 2001. p. 12.
- NORMATIVA ARGENTINA. 2004. Título IV. De los contaminantes, Párrafo I. De los metales pesados, Artículo 160. pp 1. Tomado de <http://www.tecnoolimentos.cl/html2/tit04.html#4tp1#t4p1>. noviembre 2004.
- O'NEILL P. 1990. Arsenic. Heavy metals in soils. Part. B. Alloway., London: Blackie Press.
- PÉREZ F., PRIETO F., ROJAS A., GALÁN C., MARMOLEJO Y., ROMO C. 2003. Caracterización química de aguas subterráneas en pozos y un distribuidor de agua de Zimapán, Estado de Hidalgo, México. Hidrobiológica 13(2): 95-102.
- PÉREZ F., PRIETO F., ROJAS A., MARMOLEJO Y., SALINAS E., PATIÑO F. 2006. Estudio de eliminación de arsénico con resinas de intercambio iónico en agua potable de Zimapán, Estado de Hidalgo, México. Revista de Metalurgia 42(5): 391-395.
- PETERSON P., GIRLING C. 1980. Other trace metals. Impact of heavy metal pollution on plants. Volume 1: Effects of trace metals on plant function, N. Lepp, Ed. London: Applied Science Publishers.

- PRIETO F., BÁEZ A., SCOTT W., GAYTÁN J., ZÚÑIGA A. 2006. Acumulación toxicidad y teratogénesis por presencia de arsénico en aguas en pez cebra (*Danio rerio*). AquaTIC. (España) 24: 72-85.
- PRIETOGARCIA F., LECHUGA VARGAS M.A., MÉNDEZ MARZO M.A., BARRADO E., CALLEJAS HERNÁNDEZ J. 2005a. Acumulación en tejidos vegetales de arsénico, provenientes de aguas y suelos de Zimapán, Hidalgo, México. BIOAGRO 17(3):129-135.
- PRIETOGARCIA F., LECHUGA VARGAS M.A., MÉNDEZ MARZO M.A., BARRADO E., CALLEJAS HERNÁNDEZ J. 2005b. Daños tóxicos en tejidos vegetales sensibles, producidos por aguas contaminadas con arsénico en Zimapán, Hidalgo, México. BIOAGRO 17(3):137-141.

