

ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE CADMIO Y NIQUEL EN TOMATE

E. Valdiviezo Freire¹, M. Sandoval Villa², R. Carrillo González², G. Alcántar González² y J. A. Santizo Rincón³

¹ Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP, 09 01 7069 Guayaquil, Ecuador (eisonv@yahoo.com.mx)

² Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 56230.

³ Instituto de Estadística y Socioeconomía, Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 56230.

RESUMEN

En los últimos años se ha observado que la calidad de los alimentos puede ser amenazada por el uso indiscriminado de agroquímicos, lo cual provoca que los frutos de algunos cultivos presenten altos contenidos de elementos potencialmente tóxicos que repercuten en la salud humana. Entre estos elementos están el cadmio (Cd) y el níquel (Ni), los cuales son muy móviles dentro de las plantas una vez absorbidos. Con la finalidad de determinar la concentración de cadmio y níquel en frutos de tomate, se llevó a cabo un experimento en invernadero con plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Cincuenta y seis días después del trasplante se suministró a las plantas niveles crecientes de cadmio (0, 3 y 6 mg L⁻¹) y Ni (0, 5 y 10 mg L⁻¹) por 10 días, y luego se muestrearon las plantas dividiéndolas en dos estratos; las raíces y los frutos del primer y segundo racimo, y se cuantificaron al cadmio y níquel en el tejido vegetal. El cadmio se acumuló principalmente en raíces seguido por el follaje y frutos; estos últimos con contenidos similares. No se observaron síntomas visibles de toxicidad por cadmio ya que el tomate es considerado un cultivo tolerante a este elemento. El níquel también se encontró en concentraciones excesivas y ocasionó síntomas visibles de toxicidad al suministrar 10 mg de Ni L⁻¹ de solución por 7 días, afectando los tejidos más jóvenes de la planta como la parte terminal y los frutos recién formados. El mayor contenido de níquel se encontró también en raíces, seguido por el follaje y frutos. Las concentraciones de cadmio y níquel en los frutos fueron mayores a los límites permisibles en alimentos para consumo humano.

Palabras clave: Elementos potencialmente tóxicos, metales pesados.

SUMMARY

It has been observed in recent years that food quality is threatened by the non-regulated use of agro-chemicals, which causes that some commodities contain high concentrations of heavy metals that may repercute negatively in humans health. Among heavy metals, cadmium and nickel have high mobility once absorbed by plants. Because there is no information on cadmium and nickel accumulation on tomato fruit, a greenhouse experiment was conducted utilizing tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. "Atila" F1. Fifty six days after transplant, plants were fed with nutrient solution containing 0, 3, and 6 mg L⁻¹ of cadmium and 0, 5, and 10 mg L⁻¹ of nickel for ten days, afterwards plants were harvested, and subdivided in roots, fruit (1st and second cluster), lower (1/5) and upper shoot (4/5). Cadmium was mainly accumulated in roots. Its accumulation in shoot and fruit was low. There were no simple eye cadmium toxicity symptoms on tomato plants due to the fact that tomato is tolerant to cadmium. Seven days after of supply 10 mg L⁻¹ of nickel treatment, plants showed visible symptoms of nickel toxicity over young stems, leaves and fruit. The highest accumulation of Ni occurred in roots followed far by shoot and fruit. Even nickel concentration in fruit was low compared to roots, its concentration was higher than the limit allowed in food.

Index words: Potentially toxic elements, heavy metals.

INTRODUCCION

En años recientes se ha incrementado el interés por conocer los efectos adversos de la absorción y acumulación de elementos potencialmente tóxicos en los frutos y partes comestibles de las hortalizas. Se tiene referencias de que el cadmio y níquel se acumula en grandes cantidades en las raíces, pero no se sabe cuanto puede acumular en los frutos de tomate. Por otra parte, muchos de los síntomas de toxicidad causados por esos elementos en las plantas no son visibles. El análisis químico del tejido vegetal es una herramienta que permite detectar su acumulación aun cuando no se presenten síntomas visuales en hojas, tallos o frutos. El cadmio (Cd²⁺) es un elemento no esencial (Mills y Jones, 1996) que las plantas absorben por difusión (Cutler y Rains, 1974) como Cd²⁺ (Leita *et al.*, 1996), es muy móvil dentro de la planta y su absorción puede ocurrir pasiva o metabólicamente (Streit y Stumm, 1993). El porcentaje de Cd²⁺ translocado a la parte aérea se incrementa en respuesta a altas concentraciones externas (Arduini *et al.*, 1996). Las raíces retienen la

mayor parte de los metales absorbidos por las plantas (Hardiman *et al.*, 1984; Albert, 1985). El cultivo de tomate es tolerante a Cd (Albert, 1985). Pais y Jones (1996) consideran que los valores de Cd de 0.2 a 0.8 mg kg⁻¹ MS son valores normales en las plantas y que arriba de 2 mg kg⁻¹ MS son tóxicos en plantas utilizadas como alimento. En cuanto a Ni, la concentración de Ni de hasta 1 mg kg⁻¹ MS es normal, sin embargo concentraciones mayores a 50 mg kg⁻¹ MS son tóxicas.

El Ni²⁺, es absorbido activamente a través del plasmalema en forma iónica como Ni²⁺ (Reid, 1998; Streit y Stumm, 1993). Este elemento es esencial para el funcionamiento de la enzima ureasa, la cual es importante en la transformación del N en leguminosas (Brown *et al.*, 1988; Reid, 1998). El Ni no es requerido para la síntesis de la molécula proteica (Winkler *et al.*, 1983), pero si como cofactor y es esencial para la estructura y función catalítica de la enzima (Klucas *et al.* 1983). Díaz *et al.* (2001), encontraron que la adición de 10 mg Ni L⁻¹ a la solución nutritiva tuvo efectos tóxicos, limitó el crecimiento del trigo (*Triticum aestivum* L.) debido a la acumulación de 84.5 µg Ni g⁻¹ de peso seco en el follaje, las plantas produjeron pocos y pequeños granos por severas deficiencias de micronutrientes causadas aparentemente, por antagonismo con el Ni.

De acuerdo a la Agencia de Salud de Alemania Federal, el límite permisible de Cd en vegetales verdes, frutas vegetales, arroz, papas, coles, coliflor, tomate, calabaza, cebolla y raíces comestibles es de 0.1 mg kg⁻¹ de peso fresco. (Meriam, 1991). Por otra parte, si tomamos en cuenta que más del 95% del fruto de tomate es agua, se puede hacer una relación sobre cuanto es permisible de Cd y Ni en la alimentación con los niveles contaminantes máximos en agua potable; estos son 0.005 y 0.1 mg L⁻¹, respectivamente (Alabama Cooperative Extensión Service, 1995). De acuerdo a las Normas mexicanas, las especificaciones microbiológicas y organolépticas y químicas en agua para manejo de postcosecha (Nom-127 SSA1-1994) es de 0.005 mg Cd L⁻¹ SAGAR (1994). Mientras que el límite máximo de metales pesados, en agua de riego (PROY-NOM-ECOL-004-2000) es de 0.05 y 2 mg L⁻¹ en promedio mensuales para Cd y Ni, respectivamente (SAGAR, 2000). Los objetivos de este trabajo fue determinar la concentración de cadmio y níquel en diversos órganos de la planta de tomate y evaluar antagonismos y sinergismos del cadmio y níquel con otros metales esenciales para las plantas.

MATERIALES Y METODOS

EL estudio se efectuó en invernadero ubicado en Lomas de San Esteban Edo. de México. Se utilizaron semillas de tomate "Atila" F1. Los tratamientos consistieron en la aplicación de tres niveles de Cd (0, 3 y 6 mg L⁻¹) y tres niveles de Ni (0, 5 y 10 mg L⁻¹), para una combinación de 9 tratamientos, dentro de un diseño de bloques completos aleatorizados. Los niveles de los elementos se definieron con base a las experiencias citadas en la bibliografía (Díaz *et al.*, 2001) y de cálculos realizados con el modelo Geochem V 1.0 (Parker *et al.*, 1995) estos dieron como resultado que en promedio que el Ca²⁺ se presentó en la solución en un 79% como metal libre mientras que el Ni²⁺ lo fue en un 60%, es decir que el Ca²⁺ superó al Ni²⁺ en aproximadamente 13%. En presencia del Ni²⁺ y Cd²⁺ más del 80% del Fe²⁺ forma compuestos sólidos o precipitados ya sea como hidróxidos o como fosfatos. Las proporciones libres estimadas de Mg²⁺, Mn²⁺, K⁺ y Zn²⁺ son superiores a las de Ni²⁺ y Cd²⁺, mientras que el Cu²⁺ es menor con respecto al Ni²⁺ e igual al Cd²⁺. Cada combinación se trató con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió de una planta de tomate desarrollada en recipientes de plástico de 5 L de capacidad, el recipiente fue llenado a ½ de su capacidad con agrolita. El total de unidades experimentales fue de 36.

Se empleó la solución nutritiva de Steiner (1984) modificándola en su concentración para K⁺ y SO₄²⁻. Los macroelementos tuvieron las siguientes concentraciones: K⁺, 10.44; Ca²⁺, 9.103; Mg²⁺, 4.046; NO₃⁻, 11.888; H₂PO₄⁻, 0.991; SO₄²⁻, 10.71 me L⁻¹, y la concentración de los micronutrientes fueron: H₃BO₃, 0.5; MnCl₂·4H₂O, 0.5; ZnSO₄·7H₂O, 0.05; CuSO₄·5H₂O, 0.02; H₂MoO₄·H₂O, 0.11 mg L⁻¹ (Hoagland y Arnon 1950). El Fe se añadió en forma de Fe-EDTA en dosis de 1 mL⁻¹ de solución que correspondió a 5.0 mg L⁻¹ de Fe (Steiner y Van Winden, 1970). Se empleó agua destilada para preparar la solución nutritiva y agrolita como sustrato inerte. Para la elaboración de solución con metales pesados se utilizó sulfato de cadmio (3CdSO₄·8H₂O), y nitrato de níquel hexahidratado [Ni(NO₃)₂·6H₂O] grado reactivo. El pH se ajustó a 5.5. La solución se aplicó a los 56 días después del trasplante por un periodo de 10 días e inmediatamente se cosecharon las plantas. Antes de la cosecha se determinó la altura de la planta y posteriormente se determinó peso seco de follaje, frutos y raíz. En los muestreos se separaron raíz, frutos del primer y segundo racimo, y

biomasa aérea. Esta última se dividió en dos partes: parte terminal (1/5 parte) y parte media (4/5 partes) (Figura 1).

Para la determinación de la composición química en el material vegetal se procedió a secar las muestras a 70 °C, después se molieron en molino tipo Willey provisto con un tamiz malla 40. El material de laboratorio se preparó de la siguiente forma: con una solución de detergente no aniónico Extran MA 03 libre de metales, se enjuagó con agua destilada y se sumergieron en HCl al 6% por 24 horas, después se enjuagó con agua destilada y con agua desionizada tres veces y se dejó secar en ambiente libre de polvo, con el fin de reducir cualquier posible contaminación con metales pesados o fósforo.

La mineralización del tejido vegetal se hizo mediante una digestión con ácido nítrico-perclórico propuesta por Jones y Case (1990). Se pesó 0.5 g de tejido vegetal seco y se colocó en un tubo digestor, se le adicionó 2.5 mL de HNO₃ concentrado y se colocó en un bloque digestor a una temperatura de 80°C, por una h. Las muestras se enfriaron y se les agregó 2.5 mL de HClO₄ y se digestaron a una temperatura de 200°C, hasta que el digestado alcanzó un color claro. El tubo digestor se enfrió a 80°C se reposaron para disipar los vapores de HClO₄, y finalmente se vertió agua desionizada al digestado y se llevó a un volumen de 25 mL. La cuantificación de los iones de interés se llevó a cabo por espectrofotometría de inducción de plasma (ICP). Los datos obtenidos se analizaron de acuerdo al diseño experimental propuesto usando el programa SAS (1989).

RESULTADOS Y DISCUSION

Agronómicamente las plantas no presentaron diferencias estadísticas ($\alpha \geq 0.05$) para las variables: altura de planta, peso seco de la parte terminal y segunda parte de la biomasa aérea, raíces, frutos del primer y segundo racimo (Cuadro 1).

Concentración de cadmio

Estos resultados de acuerdo a los análisis estadísticos alcanzaron varios niveles de significancia ($\alpha \leq 0.05$). Analizados en forma individual en diferentes partes de la planta, únicamente la interacción en los frutos del segundo racimo fue no significativa ($\alpha \geq 0.05$) (Cuadro 2).

En general, se observaron mayores concentraciones de Cd con niveles crecientes de Cd en todos los órganos muestreados. En el follaje de la parte terminal y parte media, la concentración de Cd aumenta con Ni5 especialmente en Cd6 (Figura 2 a y b). En los frutos del primer racimo la concentración de Cd fue mayor con Ni0 dentro de Cd3 y Cd6, efectos similares se observaron en el segundo racimo siendo mas notorio en Cd6 (Figura 2 c y d). En las raíces, la concentración mas alta de Cd se encontró con los niveles Ni5 y Ni10 en el nivel de Cd6, superiores al nivel de Ni0 (Figura 2e).

En raíz la acumulación de Cd fue mucho mayor que en el resto de la planta por estar en mayor contacto con la solución nutritiva que contenía este elemento potencialmente tóxico (Hardiman *et al.*, 1984) (Figura 4f). Este hecho se ha sugerido como una estrategia de la planta para reducir el transporte de Cd y efecto tóxico. Las concentraciones de Cd en el follaje y los frutos fueron iguales desde el punto de vista estadístico (Cuadro 3), sin embargo hay que resaltar que los valores de Cd son mayores de 40 mg Cd kg⁻¹ MS, cantidades muy elevadas para el consumo humano (Merian, 1991). En estas condiciones la planta de tomate no presentó síntomas de toxicidad por Cd y su apariencia fue la de una planta sana, esto se debe según Albert (1985) a que el tomate es una planta muy tolerante al Cd. Esto trae como consecuencia que el fruto pueda ser consumido sin darse cuenta de la presencia del Cd afectando la salud humana. Además, los valores encontrados sobrepasaron los límites de toxicidad que es de 2 mg kg⁻¹ MS según Pais y Jones (1996).

Concentración de níquel

En la concentración de Ni, no hubo significancia estadística ($\alpha \geq 0.05$) por efecto de Cd, tampoco se observó para las interacciones, sólo se observó significancia ($\alpha \leq 0.05$) para el efecto de Ni (Cuadro 2). La concentración de Ni fue mayor a medida que los niveles de Ni en la solución nutritiva aumentaron. En general las concentraciones de Ni en todos los órganos de la planta se incrementaron al aumentar los niveles

de Cd, lo cual fue mas notorio en la parte terminal, parte media y en los frutos del segundo racimo (Figuras 5a, b, c, d y e). Al igual que el Cd, la mayor concentración de Ni se presentó en la raíz, seguido por la parte terminal, la parte media y los frutos del primer y segundo racimo. Estos últimos fueron similares estadísticamente en concentración de Ni en el tejido (Figura 5 f). El nivel de 10 mg Ni L^{-1} provocó síntomas severos de toxicidad, que comenzaron a aparecer a los 7 días después de iniciar la aplicación de Ni, teniendo su contenido de $170 \text{ a } 240 \text{ mg Ni kg}^{-1} \text{ MS}$. Pais y Jones (1996), indican que valores mayores a $50 \text{ mg Ni kg}^{-1} \text{ MS}$ son tóxicos en tejido vegetal. Los síntomas se manifestaron con una coloración café claro en la parte terminal del tallo y frutos en reciente formación, se inicia la necrosis y se cae, debido a que los tejidos jóvenes son mas susceptibles ya que su estructura vascular está en formación y depende para su crecimiento del suministro de nutrimentos. La presencia de Ni ocasiona serios daños a tallos y hojas jóvenes como puede apreciarse en la Fotografía 1 y 2.

Si se toma en cuenta que el 95% del fruto de tomate es agua y que los valores permisibles de Cd y Ni en agua son: 0.005 y 0.1 mg L^{-1} , respectivamente, estos valores están por arriba de los límites permisibles de metales pesados (Alabama Cooperative Extension Service, 1995) y de los valores (0.1 mg L^{-1} peso fresco Cd) establecidas por la Agencia de Salud de Alemania Federal y de Holanda (Meriam, 1991) y constituyen un riesgo para la salud humana.

CONCLUSIONES

Las concentraciones de Cd fue mayor en las raíces en comparación con la parte terminal, parte media y frutos del primer y segundo racimo, sin embargo los valores son mayores de $25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$ en estos últimos. El Ni también se acumuló en las raíces, seguido por la parte terminal, parte media y frutos del primer y segundo racimo que fueron iguales estadísticamente y superaron los $28 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$.

Se observaron síntomas de toxicidad por Ni en la parte terminal (conteniendo en sus tejidos de $170 \text{ a } 240 \text{ mg Ni kg}^{-1} \text{ MS}$) y en los frutos más jóvenes con la dosis de 10 mg Ni L^{-1} los mismos que fueron visibles a partir de los 7 días, mientras que para Cd no se presentaron síntomas debido aparentemente a que es una planta tolerante.

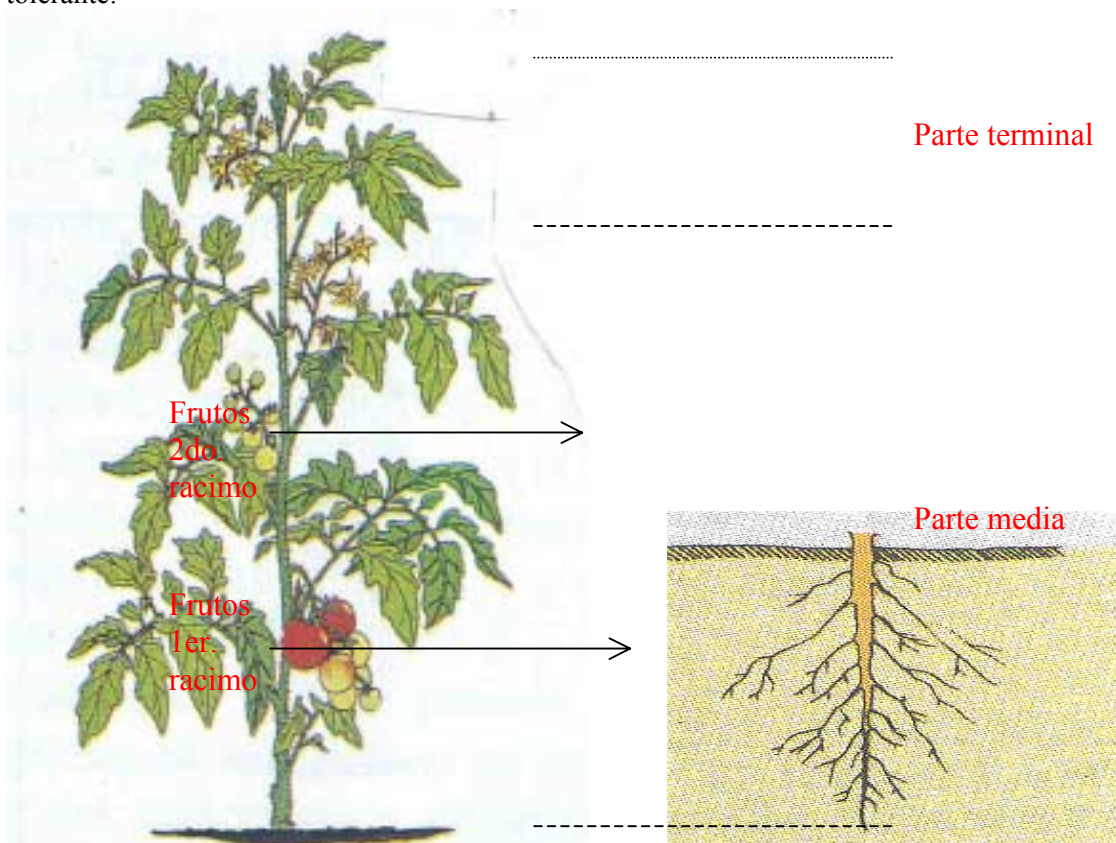


Figura 1. Partes de la planta de tomate colectadas para efecto de análisis químico



Fotografía 1. Toxicidad sobre el tallo ocasionada al suministrar 10 mg L^{-1} de níquel por 10 días



Fotografía 2. Toxicidad por níquel en frutos jóvenes de tomate al suministrar 10 mg L^{-1} de níquel por 10 días.

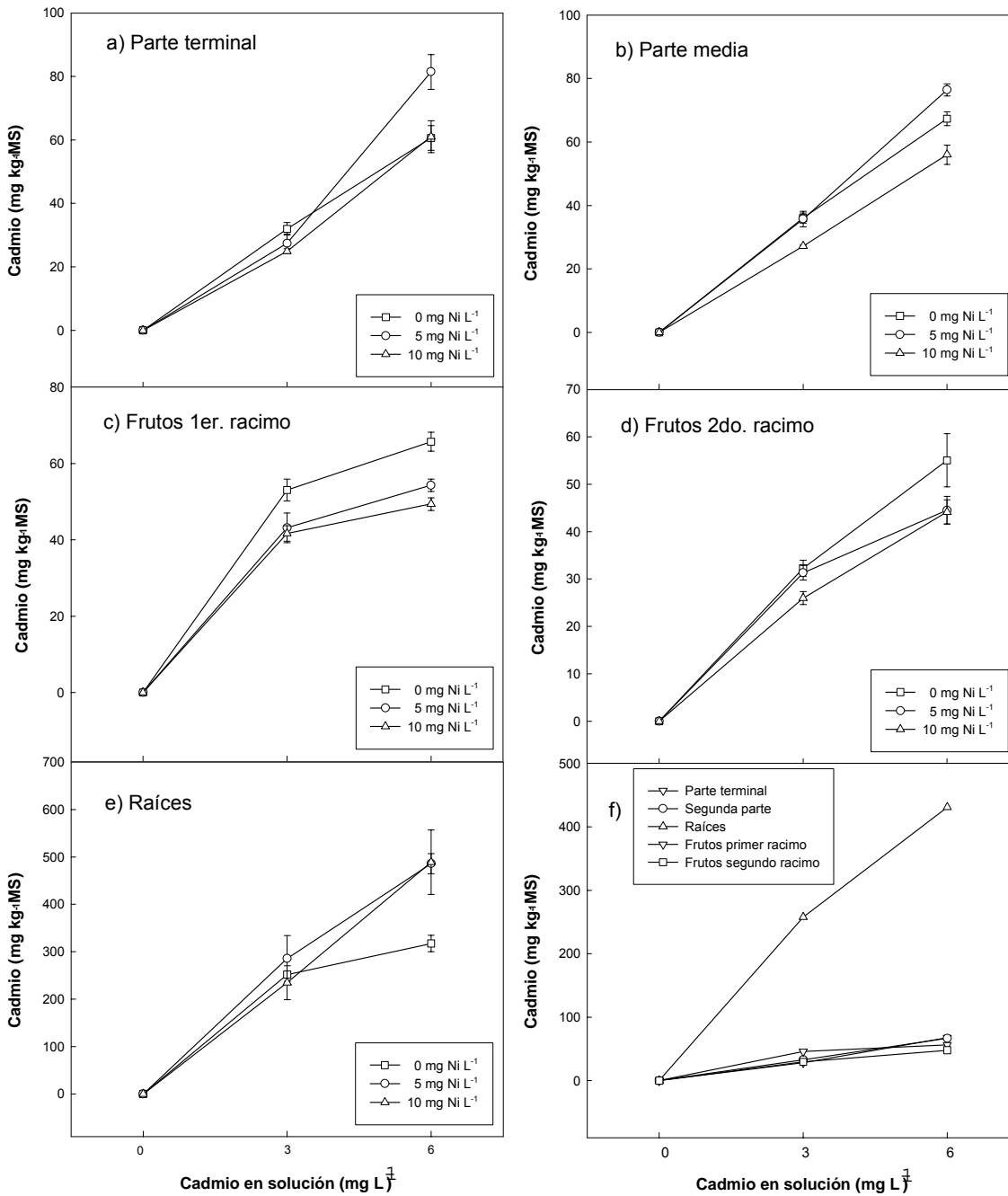


Figura 2. Concentración de cadmio en materia seca en órganos de las plantas de tomate a los 56 d y después de aplicar Cd por 10 días en la solución nutritiva. a) parte terminal; b) parte media; c) frutos del 1er. racimo; d) frutos del 2do. racimo; e) raíces; f) acumulación de Cd en los diferentes órganos de la planta de tomate.

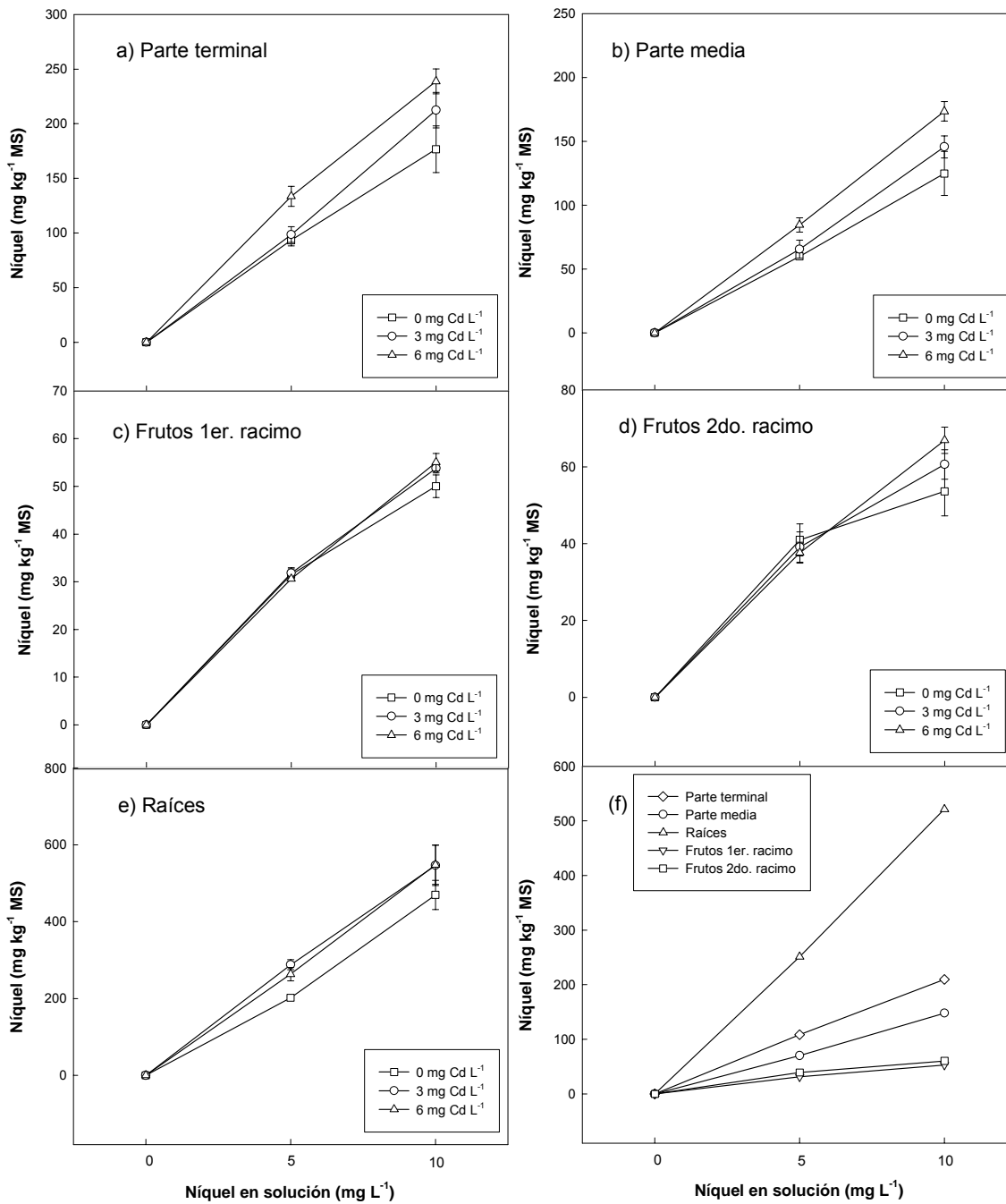


Figura 3. Concentración de Níquel en materia seca en órganos de las plantas de tomate a los 56 días y después de aplicar Ni por 10 días en la solución nutritiva. a) parte terminal; b) parte media; c) frutos 1er. racimo; d) frutos 2do. racimo; e) raíces; f) Ni en las diferentes partes de la planta.

Cuadro 1. Análisis de la varianza de algunas características agronómicas del experimento Cd vs. Ni. Montecillo, 2001.

Fuentes de variación	G.L.	Altura de planta	Peso seco de parte terminal	Peso seco de parte media	Peso seco de raíces	Peso seco frutos racimo	Peso seco frutos 1er . racimo	Peso seco frutos 2do. racimo
Modelo	11	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Cd	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Ni	2	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Cd*Ni	4	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
C.V. (%)		3.25	34.28	38.12	17.11	22.94		9.69

Los grados de libertad de los bloques son 3.

N.S., * : No significativo, significativo a $\alpha \leq 0.05$, respectivamente.

Cuadro 2. Análisis de la varianza para la concentración de Cd y Ni d plantas de tomate por efecto de aplicación de dosis crecientes de Cd y Ni en la solución nutritiva. Montecillo 2001.

Fuente de variación	G.L.	Cd	Ni	Fuente de variación	G.L.	Cd	Ni
Parte terminal				Parte media			
Modelo	11	***	***	Modelo	11	***	***
Cd	2	***	N.S.	Cd	2	***	N.S.
Ni	2	*	***	Ni	2	***	***
Cd*Ni	4	***	N.S.	Cd*Ni	4	***	N.S.
C.V. (%)		18.82	7.94	C.V. (%)		9.75	18.56
Frutos 1^{er}. racimo				Frutos 2^{do}. racimo			
Modelo	11	***	***	Modelo	11	***	***
Cd	2	***	N.S.	Cd	2	***	N.S.
Ni	2	***	***	Ni	2	*	***
Cd*Ni	4	**	N.S.	Cd*Ni	4	N.S.	N.S.
C.V. (%)		11.67	7.94	C.V. (%)		19.04	18.56
Raíces							
Modelo	11	***	***				
Cd	2	***	N.S.				
Ni	2	*	***				
Cd*Ni	4	*	N.S.				
C.V. (%)		28.44	22.02				

Los grados de libertad de los bloques son 3.

N.S., *, **, ***: No significativo $\alpha \leq 0.05$, 0.01 y 0.001, respectivamente.

Cuadro 3. Análisis de la varianza para la concentración de Cd y Ni en los diversos órganos muestreados en plantas de tomate. Montecillo, 2001.

Fuente de variación	G. L.	Cd Significancia estadística	Ni
Modelo	47	***	***
Partes	4	***	***
Cd	2	***	***
Ni	2	N.S.	***
Partes * Cd	8	***	*
Partes * Ni	8	***	***
Cd* Ni	4	*	*
Partes * Cd * Ni	16	***	N.S.

Los grados de libertad de los bloques son 3.

N.S., *, **, ***: No significativo $\alpha \leq 0.05$, 0.01 y 0.001, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Alabama Cooperative Extension Service. 1995. Water quality and pollution control handbook. Circular ANR-790. Managing drinking water quality, Auburn University, Auburn, AL, USA.
- Albert, L. A. 1985 (Ed.). Curso básico de toxicología ambiental. Centro Panamericano de Ecología humana y salud. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México. D.F.
- Arduini, I., D. L. Godbold, and A. Onnis, 1996. Cadmium and copper uptake and distribution in mediterranean tree seedlings. *Physiol. Plant.* 71:111-117.
- Cutler, J. M., and D. W. Rains. 1974. Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiol.* 54:67-71.
- Brown, P. H., R. M. Welch, and E. E. Cary. 1988. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. *Plant Physiol.* 85:801-803.
- Díaz, A. I., M.U. Larqué, G. Alcántar., A. Vázquez, F.V. González, y R. Carrillo. 2001. Acumulaciones tóxicas del níquel en el crecimiento y la nutrición de trigo. *Terra.* 19:199-209.
- Hardiman, R. T., B. Jacoby, and A. Banin. 1984. Factors effecting the distribution of cadmium, copper and lead and their affect yield and zinc content in bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil* 81:17-27.
- Hoagland, D. R., and D. I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circle 347 Berkeley Calif. Agric. Exp. Station Univ. of California.
- Leita, L., M. De Nobili, S. Cesco, and C. Mondini. 1996. Analysis of intercellular cadmium forms in roots and leaves of bush bean. *J. Plant Nutr.* 19:527-533.
- Meriam E. (Ed.) 1991. Metals and their compounds en the environment. Occurrence, analysis and biological relevance”, VHC, Weinheim, Alemania. p. 704.
- Mills, H. A., and J. B. Jones, Jr. 1996. Plant Analysis handbook II. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide. Micromacro Publishing Athens, GA, USA. 422p.
- Parker, D. R., W. A. Norvell, and R. L. Chaney. 1995. GEOCHEM-PC: A chemical speciation program for IBM and compatible personal computers. *In: Chemical equilibrium and reaction models.* (Ed.) R. H.

- Loeppert *et al.* pp 253-269. SSSA Spec. Pub. No.42 Soil Science Society of America, Madison, WI, USA.
- Jones, J. B., and V. W. Case. 1990. Analising plant tissue samples. pp. 404-409. *In*: Soil testing and plant analysis. R.L. Westerman (Ed.). Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Klucas, R. V., F. J. Hanus, S.A Russell, and H. J. Evans. 1983. Nickel: a micronutrient element for hidrogen-dependent growth of *Rhizobium japonicum* and for expression of urease activity in soybean leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 80:2253-2257.
- Reid, K. (ed.). 1998. Soil fertility handbook. Ministry of Agriculture, Food and Affairs. The Fertilizer Institute of Ontario Inc. Publication 611. Toronto, Ontario.
- SAGAR, 1994. Norma oficial mexicana. Nom-127-SSA1-1994. "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles, calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. <http://www.ssa.gov.mx/nom/127ssa14.html> (revisado el 14 de noviembre de 2001).
- SAGAR, 2000. Norma oficial mexicana (norma emergente) NOM-EM-034-FITO-2000. Requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de buenas prácticas agrícolas en los procesos de producción de frutas y hortalizas frescas. <http://www.sagarpa.gob.mx/conasag/normaem34.htm> (Revisado el 14 de noviembre de 2001).
- SAS, 1989. The SAS Sistem for Window. SAS Institute. Cary, NC. USA.
- Steiner, A. A., and H. Van Winden. 1970. Recipe for ferric salts of ethylenediaminetetraacetic acid. *Plant Physiol.* 46:862-863.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. I.S.O.S.C. pp 633-650. *In*: Sixth International Congress on Soilless Culture. The Netherlands.
- Streit, B. and W. Stumm. 1993. Chemical properties of metals and the process of bioacumulation in terrestrial plants. *In*: Plants as biomonitors. Idicators for heavy metals in terrestrial environment. Ed. B. Markert. VCH. Federal Republic of Germany. pp: 31-35.
- Winkler. R. G., J. C. Polacco., D. L. Eskew., and R. M. Welch. 1983. Nickel is not required for apo-ureasa synthesis in soybean seed. *Plant Physiol.* 72: 262-263.