

Effect of salt-marsh plants on the mobility of Cr in sediments

Efecto de las plantas de marismas en la movilidad del Cr en los sedimentos

SL Tanacković^{1,2}, M Caetano^{1*}, C Vale¹¹ INRB/IPIMAR-National Institute for Biological Resources, Av. Brasília, 1449-006 Lisbon, Portugal.

*E-mail: mcaetano@ipimar.pt

² ISEL, R. Conselheiro Emídio Navarro 1, 1959-007 Lisbon, Portugal.**Abstract**

Depth variation (1-cm resolution) of total Fe, Mn, and Cr concentrations was determined in below-ground biomass of *Halimione portulacoides* and in root sediments from two Tagus Estuary salt marshes (Portugal). The metal fractions extracted by hydroxylamine (HYD) and HCl were also quantified in sediment samples. Edaphic conditions of the sediment (O_2 , pH, E_H , acid-volatile sulphides [AVS], and root biomass) were characterized in both marshes. Higher dissolved oxygen concentrations were found at depths with increased root biomass, while AVS were nearly absent in the root zone increasing with depth. Sediments colonized by *H. portulacoides* showed higher variability of total metal concentrations with depth than non-vegetated sediments, possibly due to intense exchanges between the below-ground plants and surrounding sediments. Concentrations of Fe_{HYD} (mainly Fe oxyhydroxides) were elevated in the root sediments since Fe(II) is oxidized by the O_2 released from roots. The normalization of Cr_{HYD} levels to Fe_{HYD} showed a sharp increase when oxygen is depleted, suggesting that Cr is sequestered in the Fe oxyhydroxide fraction. Roots of *H. portulacoides* from both marshes showed little ability to take up and accumulate Cr. A possible explanation is the reduction of soluble Cr(VI) to the stable Cr(III) and subsequent retention in the Fe oxyhydroxide fraction. The inability or limited defence mechanisms of *H. portulacoides* to accumulate Cr indicates that this halophyte is not adequate for successfully phytostabilizing Cr-polluted marshes.

Key words: chromium, salt marsh, *Halimione portulacoides*, Fe oxyhydroxides.

Resumen

Se determinó la variación (con resolución de 1 cm) de las concentraciones totales de Fe, Mn y Cr en la biomasa subterránea y en los sedimentos entre las raíces de *Halimione portulacoides* en dos marismas del estuario del Tajo (Portugal). También se cuantificaron las fracciones extraídas mediante hidroxilamina (HYD) y HCl de las muestras de sedimentos. Se caracterizaron las condiciones edáficas (O_2 , pH, E_H , sulfuros volátiles en ácido, y biomasa de raíces) de ambas marismas. Se encontraron mayores concentraciones de oxígeno disuelto a profundidades con mayor biomasa de raíces. Por el contrario, los sulfuros volátiles estuvieron casi ausentes en la zona de raíces pero se incrementaron con la profundidad. Los sedimentos colonizados por *H. portulacoides* mostraron una mayor variabilidad en las concentraciones totales de metal con la profundidad que los sedimentos sin vegetación, posiblemente debido al intenso intercambio entre la vegetación subterránea y los sedimentos que la rodean. Las concentraciones de Fe_{HYD} (principalmente oxihidróxidos de Fe) fueron altas en los sedimentos con raíces ya que el O_2 liberado por éstas oxida el Fe(II). La normalización de los niveles de Cr_{HYD} a Fe_{HYD} mostró un marcado aumento al agotarse el oxígeno, lo que sugiere el secuestro del Cr por la fracción de oxihidróxidos de Fe. Las raíces de *H. portulacoides* de ambas marismas mostraron una baja capacidad para asimilar y acumular Cr, lo cual podría ser explicado por la reducción del Cr(VI) soluble al estable Cr(III), y su subsiguiente retención en la fracción de oxihidróxidos de Fe. Por ende, la incapacidad o el limitado mecanismo de defensa de *H. portulacoides* para acumular estas especies de Cr lo hacen ineficaz para la fitoestabilización de marismas contaminadas por este metal.

Palabras clave: cromo, marisma, *Halimione portulacoides*, oxihidróxidos de Fe.

Introduction

Salt-marsh plants can mobilize metals from sediments and soils through their root system (Jacob and Otte 2003). This mobilization is induced by the release of oxygen and exudates to the sediments surrounding the roots (Clothier and Green 1997, Sundby *et al.* 2005). The excess of oxygen that is not consumed during respiration in below-ground biomass diffuses to the surrounding sediment, oxidizing reduced species in solid sediment and pore water components (Sundby *et al.* 2003).

Introducción

Las plantas de marismas pueden movilizar metales de suelos y sedimentos a través de su sistema de raíces (Jacob y Otte 2003). Esta movilización es inducida por la liberación de oxígeno y exudados a los sedimentos entre las raíces (Clothier y Green 1997, Sundby *et al.* 2005). El exceso de oxígeno que no se consume durante la respiración de la biomasa subterránea se difunde a los sedimentos circundantes, oxidando las especies reducidas en el sedimento sólido y los componentes del

Even though several plants have the ability to retain large quantities of most metals in their root system (Meagher 2000, Williams 2002), halophytes from southern European marshes show the opposite tendency with respect to Cr (Caçador *et al.* 1996a, Almeida *et al.* 2004). According to these authors, Cr concentrations in below-ground plant tissues were considerably lower than those found in sediments surrounding the roots. Recently, a high-resolution depth scale study was used to better understand the mobilization/retention processes of metals in the rhizosphere (Caetano *et al.* 2007); however, the research addressed total concentrations in the sediment and the metal fractionation was not examined. This may be particularly important for Cr since frequent changes occur in the Fe(II)/Fe(III) cycle in salt-marsh sediments (Kostka and Luther 1995, Sundby *et al.* 2003) and the chemistry interplay of both metals in the environment is well documented (Wittbrodt and Palmer 1996, Loyaux-Lawniczak *et al.* 2000). The most stable oxidation states of Cr in the environment are the trivalent and hexavalent species, which have contrasting toxicity, mobility and bioavailability. Trivalent Cr has a limited hydroxide solubility, forms strong complexes with soil minerals, and is stable in reduced environments (Zayed and Terry 2003), whereas Cr(VI) has a high solubility, is a strong oxidizing agent, and is toxic to plants (Zhang and Li 1987). Common chemical reductants of Cr(VI) include Fe(II), Fe(II)-bearing minerals, dissolved organic compounds, and sulphides (Pettine *et al.* 1998, Beukes *et al.* 1999). Some plants have the ability to reduce Cr(VI) to the less toxic Cr(III) at root level (Aldrich *et al.* 2003, Gardea-Torresdey *et al.* 2005).

The Tagus Estuary (Portugal) is one of the largest of the European Atlantic coast, covering an area of 320,000 ha. Around 40% of the estuary is composed of intertidal mudflats, and its southern and eastern shores contain extensive areas of salt marshes colonized mainly by *Sarcocornia* sp., *Halimione portulacoides*, and *Spartina maritima* (Caçador *et al.* 1996a). Pancas salt marsh is part of the Tagus Nature Reserve and is located in the southern margin of the estuary, 15 km upstream of urbanized and industrialized areas, while Rosário marsh is near an industrial park with several chemical plants and a densely urbanized area. Both marshes are inundated twice a day by salt water due to tidal action (2–4 m of tidal amplitude) through a highly branched system of channels. Several studies on the Tagus marshes have shown that colonized sediments contain higher concentrations of metals of anthropogenic origin than non-vegetated sediments (Caçador *et al.* 1996a, b; Caçador and Vale 2001; Micaelo *et al.* 2003).

This study presents high-resolution depth profiles of Fe, Mn, and Cr concentrations in sediments and in below-ground biomass of *Halimione portulacoides* from two salt marshes (Pancas and Rosário) with different morphological characteristics. Determinations of these metals were used to obtain a better understanding of the effect of salt-marsh plants on the Cr fractionation in sediments.

agua intersticial (Sundby *et al.* 2003). A pesar de que varias plantas tienen la capacidad de retener grandes cantidades de la mayoría de los metales en su sistema de raíces (Meagher 2000, Williams 2002), las halófitas de las marismas del sur de Europa muestran una tendencia contraria en lo que respecta al Cr (Caçador *et al.* 1996a, Almeida *et al.* 2004). Según estos autores, las concentraciones de Cr en los tejidos vegetales subterráneos debajo del suelo fueron considerablemente menores que las encontradas en los sedimentos entre las raíces. Recientemente, se realizó un estudio de alta resolución a diferentes profundidades para entender mejor los procesos de movilización y retención de los metales en la rizosfera (Caetano *et al.* 2007); sin embargo, la investigación se concentró en las concentraciones totales en los sedimentos y no se examinó su fraccionación. Ésta puede ser particularmente importante para el Cr ya que existen cambios frecuentes en el ciclo de Fe(II)/Fe(III) en los sedimentos de marismas (Kostka y Luther 1995, Sundby *et al.* 2003), y la interacción química entre ambos metales en el ambiente ha sido bien documentada (Wittbrodt y Palmer 1996, Loyaux-Lawniczak *et al.* 2000). Los estados de oxidación más estables del Cr en el ambiente son el trivalente y el hexavalente, los cuales contrastan en toxicidad, movilidad y biodisponibilidad. El Cr(III) presenta una solubilidad limitada del hidróxido, forma complejos fuertes con los minerales del suelo, y es estable en ambientes reducidos (Zayed y Terry 2003), mientras que el Cr(VI) presenta una alta solubilidad, es un agente oxidante fuerte, y es tóxico para las plantas (Zhang y Li 1987). Los reductores químicos comunes del Cr(VI) incluyen el Fe(II), minerales portadores de Fe(II), compuestos orgánicos disueltos y sulfuros (Pettine *et al.* 1998, Beukes *et al.* 1999). Algunas plantas poseen la capacidad de reducir el Cr(VI) al menos tóxico Cr(III) a nivel de su raíz (Aldrich *et al.* 2003, Gardea-Torresdey *et al.* 2005).

El estuario del Tajo (Portugal) cubre un área de 320,000 ha y es uno de los más grandes de la costa Atlántica de Europa. Alrededor de 40% del estuario consiste de planicies mareales de lodo, y en su parte sur y este se encuentran extensas zonas de marismas colonizadas principalmente por *Sarcocornia* sp., *Halimione portulacoides* y *Spartina maritima* (Caçador *et al.* 1996a). La marisma conocida como Pancas forma parte de la Reserva Natural del Tajo y se localiza en la parte sur del estuario, 15 km río arriba de zonas urbanizadas e industrializadas, mientras que la marisma de Rosário se encuentra cerca de un parque industrial con varias plantas químicas y de una zona densamente urbanizada. Ambas marismas se inundan dos veces al día por agua de mar debido a la acción de la marea (2–4 m de amplitud mareal) a través de un sistema de canales muy ramificado. En varios estudios sobre las marismas del Tajo se ha encontrado que los sedimentos colonizados contienen mayores concentraciones de metales de origen antropogénico que los sedimentos sin vegetación (Caçador *et al.* 1996a, b; Caçador y Vale 2001; Micaelo *et al.* 2003).

En este trabajo se presentan perfiles de profundidad de alta resolución de las concentraciones de Fe, Mn y Cr en los sedimentos y en la biomasa subterránea de *Halimione*

Material and methods

Sampling

Sediment cores from pure stands of *H. portulacoides* and from non-vegetated areas were sampled in November 2004 in the Rosário and Pancas marshes (fig. 1), using a stainless-steel corer that minimizes compaction. Cores were sliced in 1-cm layers at the root zone (0–23 cm) and in 5-cm layers at deeper sediments. Manipulation of samples took less than 15 min for each core. Dissolved oxygen and pH were measured *in situ* in separate cores immediately after retrieving. At the laboratory, a portion of wet sediment without roots from each layer was removed and sealed in small polyethylene vials to determine the content of acid-volatile sulphides (AVS). The below-ground plant material of each layer was carefully separated from the sediment under a flux of Milli-Q water (18.2 M Ω) using a 212- μ m mesh size and sieved to remove any adhering particles. Sediment and biological materials were oven-dried at 40°C, weighed to determine below-ground biomass, and homogenized with an agate mortar for further analysis.

In situ measurements

Oxygen levels were measured using a needle electrode with internal reference (Diamond Electro-Tech Inc.) following the method described in Caetano and Vale (2002). The pH was

portulacoides de dos marismas (Pancas y Rosário) con diferentes características morfológicas. Las determinaciones de estos metales se usaron para conocer mejor el efecto de las plantas de marismas en la fraccionación del Cr en los sedimentos.

Materiales y métodos

Muestreo

Se muestrearon núcleos de sedimento de poblaciones exclusivas de *H. portulacoides* y de zonas sin vegetación en noviembre de 2004 en las marismas de Rosário y Pancas (fig. 1), usando un nucleador de acero inoxidable que minimiza la compactación. Los núcleos fueron seccionados en capas de 1 cm en la zona de raíces (0–23 cm) y en capas de 5 cm en sedimentos más profundos. Las muestras de cada núcleo se manipularon en menos de 15 min. En los núcleos individuales se midieron *in situ* el oxígeno disuelto y pH, inmediatamente después de recogerse. En el laboratorio, de cada capa se extrajo una porción de sedimento húmedo sin raíces y se colocó en pequeños frascos de polietileno sellados para determinar el contenido de sulfuros volátiles en ácido (AVS por sus siglas en inglés). El material vegetal subterráneo fue separado cuidadosamente de cada capa del sedimento con flujo de agua Milli-Q (18.2 M Ω) a través de una malla de 212 μ m y se tamizó para eliminar partículas adheridas. El sedimento y el material biológico fueron secados en un horno a 40°C, pesados para determinar la biomasa subterránea, y homogeneizados con un mortero de ágata para su análisis.

Mediciones in situ

Se midieron los niveles de oxígeno usando un electrodo de aguja con referencia interna (Diamond Electro-Tech Inc.), siguiendo el método descrito por Caetano y Vale (2002). El pH se midió mediante un electrodo de vidrio combinado, previamente calibrado con dos soluciones amortiguadoras de pH 4 y pH 7.

Análisis de metales totales

Aproximadamente 100 mg de sedimento fueron completamente mineralizados con HF (40%) y agua regia (HCl al 36%:HNO₃ al 60%; 3:1) en bombas cerradas de Teflón a 100°C durante 1 h. El contenido de la bomba se vertió en un frasco volumétrico de 100 mL, con 5.6 g de ácido bórico, que se llenó con agua Milli-Q (Rantala y Loring 1975). El material vegetal (\approx 200 mg) fue digerido con una mezcla de HNO₃ (60%) y HClO₄ (70%) en bombas de Teflón a 130°C de acuerdo con el método descrito por Otte (1991). Se prepararon dos blancos usando el mismo proceso analítico y los mismos reactivos, que se incluyeron junto con cada lote de 20 muestras. Se utilizó espectrometría de absorción atómica a la flama (FAAS), usando una flama de óxido nitroso-acetileno para medir el Al, y una de aire-acetileno para el Fe y Mn. Para analizar el Cr

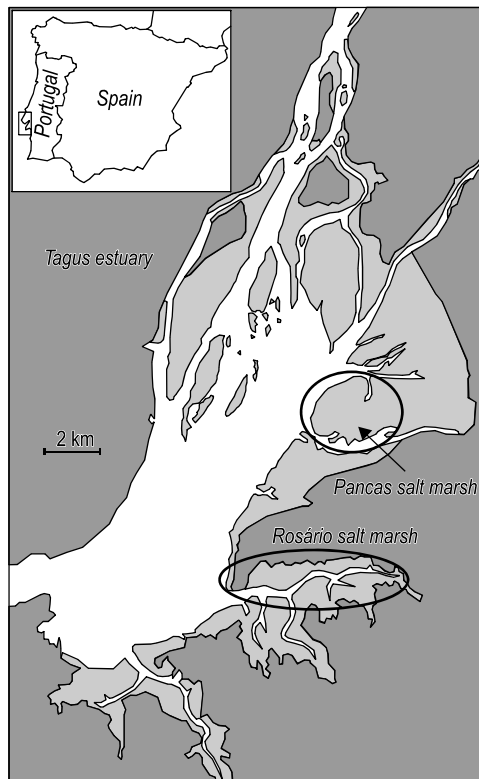


Figure 1. Location of the Tagus Estuary salt marshes studied.
Figura 1. Localización de las marismas del estuario del Tajo estudiadas.

measured using a combined glass electrode previously calibrated with two buffer solutions of pH 4 and pH 7.

Total metal analysis

Approximately 100 mg of sediment were mineralized completely with HF (40%) and aqua regia (HCl-36%:HNO₃-60%; 3:1) in closed Teflon bombs at 100°C during 1 h. The bomb content was poured into a 100-mL volumetric flask containing 5.6 g of boric acid and filled with Milli-Q water (Rantala and Loring 1975). Plant material (≈200 mg) was digested with a mixture of HNO₃ (60%) and HClO₄ (70%) in Teflon bombs at 130°C according to the method described by Otte (1991). Two procedural blanks were prepared using the same analytical procedure and reagents, and included within each batch of 20 samples. Flame atomic absorption spectrometry (FAAS) was used to analyze Al, using a nitrous oxide-acetylene flame, and Fe and Mn, using an air-acetylene flame. Analysis of total Cr was performed using THGA graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) with Zeeman background correction. Metal concentrations were determined by the standard additions method. The precision and accuracy of each metal concentration measurement, determined through repeated analysis of certified reference materials (MESS2, BCSS1, and PACS2 for sediment, and BCR60-*Lagarosiphon major* and BCR61-*Platihypnidium riparioides* for plant material), were 1–4% and 2–5%, respectively. Procedural blanks always accounted for less than 1% of the total metal concentrations in samples.

Extraction with hydroxylamine chloride

Each sediment sample was stirred for 6 h with NH₂OH.HCl (0.04 M) solution in CH₃COOH (25%) following the method described by Chester and Hughes (1967). The supernatant solution was removed by centrifugation at 3000 rpm for 10 min and filtered through 0.45-μm polycarbonate membranes. Iron and Mn in the overlying solution were determined by FAAS and Cr by GFAAS, as described above.

Extraction with HCl

The AVS, mainly amorphous Fe sulphides and poorly crystallized Fe-oxides, were extracted with 1 M HCl using ≈300 mg of wet sediment. In a trap system, sulphide was retained in a deaerated NaOH solution and analyzed by differential pulse polarography using a Metrohm apparatus equipped with a 693 VA processor and a 694 VA stand (Madureira *et al.* 1997). Recovery of standard sulphide solutions was 97%. Evaluation of the sulphur was done by constructing calibration curves.

Results

Below-ground biomass and sediment composition

A similar depth penetration of *H. portulacoides* roots in the sediment was found at both marshes (23 cm). The below-

total se utilizó espectrometría de absorción atómica con horno de grafito THGA (GFAAS) con corrección de fondo por efecto Zeeman. Las concentraciones de los metales se determinaron usando el método de adiciones estándar, y la precisión y exactitud de cada una de éstas, determinadas mediante repetidos análisis de materiales de referencia certificados (MESS2, BCSS1 y PACS2 para sedimento, y BCR60-*Lagarosiphon major* y BCR61-*Platihypnidium riparioides* para el material vegetal), fueron 1–4% y 2–5%, respectivamente. Los blancos siempre explicaron menos del 1% de las concentraciones totales de los metales en las muestras.

Extracción con cloruro de hidroxilamina

Cada muestra de sedimento se agitó durante 6 h con una solución de NH₂OH.HCl (0.04 M) en CH₃COOH (al 25%), siguiendo el método descrito por Chester y Hughes (1967). El sobrenadante se retiró mediante centrifugación a 3000 rpm por 10 min y se filtró a través de membranas de policarbonato de 0.45 μm. Se determinaron el Fe y el Mn en la solución sobreyacente mediante FAAS, y el Cr mediante GFAAS, como se describe arriba.

Extracción con HCl

Los AVS, principalmente los sulfuros amorfos de Fe y los óxidos de Fe pobremente cristalizados, fueron extraídos con HCl 1 M usando ≈300 mg de sedimento húmedo. En un sistema de trampas se retuvieron los sulfuros en una solución de NaOH sin aire y se analizaron por polarografía de pulso diferencial usando un aparato Metrohm equipado con un procesador 693 VA y una base 694 VA (Madureira *et al.* 1997). La recuperación de la solución estándar de sulfuro fue de 97%. La evaluación del sulfuro se realizó mediante la construcción de curvas de calibración.

Resultados

Biomasa subterránea y composición del sedimento

La profundidad de penetración en el sedimento de las raíces de *H. portulacoides* fue similar en ambas marismas (23 cm). La biomasa subterránea fue un orden de magnitud mayor en Rosário (95–403 g m⁻²) que en Pancas (11–154 g m⁻²), lo que indica que la competencia por nutrientes en esa marisma es intensa. La profundidad de penetración del oxígeno disuelto en los sedimentos sin vegetación estuvo restringida al primer milímetro. En los sedimentos colonizados por *H. portulacoides* de Rosário, los niveles de O₂ incrementaron bruscamente desde niveles no detectables en la superficie hasta 109 μM a 3–4 cm de profundidad. Los niveles se mantuvieron altos hasta una profundidad de 13 cm (93–126 μM), para luego disminuir abruptamente a cero. Aunque se encontró un perfil similar en Pancas, las concentraciones estuvieron por debajo de 93 μM. No se encontró O₂ disuelto en los sedimentos entre las raíces

ground biomass was up to one order of magnitude greater in Rosário (95–403 g m⁻²) than in Pancas (11–154 g m⁻²), suggesting intense competition for nutrients in that marsh. Depth penetration of dissolved oxygen in non-vegetated sediments of both marshes was restricted to the first millimetre. In Rosário sediments colonized by *H. portulacoides*, O₂ levels increased sharply from undetectable levels at the surface to 109 µM at 3–4 cm depth. Levels remained high until 13 cm depth (93–126 µM), then decreased abruptly to zero. Although a similar profile was found in Pancas, concentrations were below 93 µM. Dissolved O₂ was not found in rooting sediments below 14 cm depth in vegetated sediments of both marshes. Almost unchanging pH values were registered in non-vegetated sediments (7.1 ± 0.1 in Rosário and 7.4 ± 0.2 in Pancas). Colonized Pancas sediments were more acidic and constant with depth (6.4–6.7) than those from Rosário, where a subsurface minimum pH (5.9) was found at 20 cm depth. A gradual increase in AVS concentrations with depth was found in non-vegetated sediments from both marshes. The depth profiles of *H. portulacoides* sediments showed low AVS levels (0.005–1.2 mmol g⁻¹) in the first 23 cm depth (root zone), increasing to 32 and 6.8 mmol g⁻¹ in Rosário and Pancas, respectively, at deeper layers.

Total metal distribution in sediment cores

Although Al content ranged within narrow intervals in both Rosário (10.6 ± 0.9%) and Pancas (10.4 ± 0.4%), the Fe, Mn, and Cr concentrations were normalized to Al (weight basis) in order to minimize the slight differences associated with changes in sediment grain size (Windom *et al.* 1989). Figure 2 presents the vertical profiles of metal/Al ratios in non-vegetated sediments and in sediments colonized by *H. portulacoides* from both marshes. Vertical profiles of Fe/Al, Mn/Al, and Cr/Al in non-vegetated Rosário sediments showed a small variation with depth, while in Pancas, a maximum of metal/Al ratios was found at deeper layers (Fe/Al = 0.58 at 42 cm, Mn/Al = 96 at 27 cm, and Cr/Al = 12 at 32 cm). In vegetated sediments a scattered variation of these ratios was found in the root zone (0–23 cm). Below this zone, a maximum of Fe/Al, Mn/Al, and Cr/Al ratios was found in Rosário sediments, whilst no trend was detected in Pancas. In Rosário, metal/Al ratios were lower in colonized sediments than in non-vegetated areas (fig. 2), while in Pancas similar values were found.

Hydroxylamine-extracted metals

The reactive phases obtained by hydroxylamine extraction (HYD) represent an operationally-defined fraction that comprises amorphous and crystalline Fe and Mn oxyhydroxides and carbonates. The measured concentrations of Fe, Mn, and Cr associated with this fraction are hereafter indicated as the proportion of their total content. The depth variation of Fe_{HYD} was similar in non-vegetated sediments from both marshes,

por debajo de los 14 cm de profundidad en ninguna de las marismas. Los valores de pH casi no variaron en los sedimentos sin plantas (7.1 ± 0.1 en Rosário y 7.4 ± 0.2 en Pancas). Los sedimentos colonizados de Pancas resultaron más ácidos y constantes con la profundidad (6.4–6.7) que los de Rosário, donde se registró un pH mínimo subsuperficial (5.9) a 20 cm de profundidad. En los sedimentos sin vegetación de ambas marismas se observó un incremento gradual de las concentraciones de AVS con la profundidad. Los perfiles de profundidad de los sedimentos colonizados por *H. portulacoides* mostraron niveles bajos de AVS (0.005–1.2 mmol g⁻¹) en los primeros 23 cm de profundidad (zona de raíces), incrementando a mayores profundidades hasta 32 y 6.8 mmol g⁻¹ en Rosário y Pancas, respectivamente.

Distribución de metales totales en los núcleos de sedimento

Aunque el contenido de Al varió dentro de un estrecho intervalo tanto en Rosário (10.6 ± 0.9%) como en Pancas (10.4 ± 0.4%), las concentraciones de Fe, Mn y Cr fueron normalizadas con base al peso de aquel metal para minimizar las pequeñas diferencias asociadas con los cambios en el tamaño de grano (Windom *et al.* 1989). La figura 2 presenta los perfiles verticales de las razones metal/Al en sedimentos sin vegetación y en sedimentos colonizados por *H. portulacoides* de ambas marismas. Los perfiles verticales de Fe/Al, Mn/Al y Cr/Al en los sedimentos sin vegetación de Rosário mostraron una pequeña variación con la profundidad, mientras que los de Pancas mostraron un máximo en las razones metal/Al a niveles más profundos (a 42 cm, Fe/Al = 0.58; a 27 cm, Mn/Al = 96; y a 32 cm, Cr/Al = 12). En los sedimentos con vegetación se encontró una variación dispersa de estas razones en la zona de raíces (0–23 cm). Por debajo de ésta se encontró un máximo de las razones Fe/Al, Mn/Al y Cr/Al en los sedimentos de Rosário, mientras que en Pancas no se observó ninguna tendencia. En Rosário las razones metal/Al fueron menores en los sedimentos colonizados que en las áreas sin vegetación (fig. 2), pero en Pancas se obtuvieron valores similares.

Metales extraídos con hidroxilamina

Las fases reactivas obtenidas mediante la extracción con hidroxilamina (HYD) representan una fracción definida operacionalmente que comprende carbonatos y oxihidróxidos amorfos y cristalinos de Fe y Mn. Las concentraciones medidas de Fe, Mn y Cr asociadas con esta fracción de aquí en adelante se indicarán como la proporción de su contenido total. La variación con la profundidad de Fe_{HYD} fue similar en los sedimentos sin vegetación de ambas marismas, mostrando una reducción uniforme hacia sedimentos más profundos: 3.5–0.4% y 11–4.3% en Pancas y Rosário, respectivamente. En Pancas los sedimentos colonizados por *H. portulacoides* presentaron un perfil similar de Fe_{HYD}, decreciendo de 10.8% en los sedimentos subsuperficiales a 4.5% a 27 cm de profundidad. Se encontraron dos picos en los sedimentos con vegetación de Rosário:

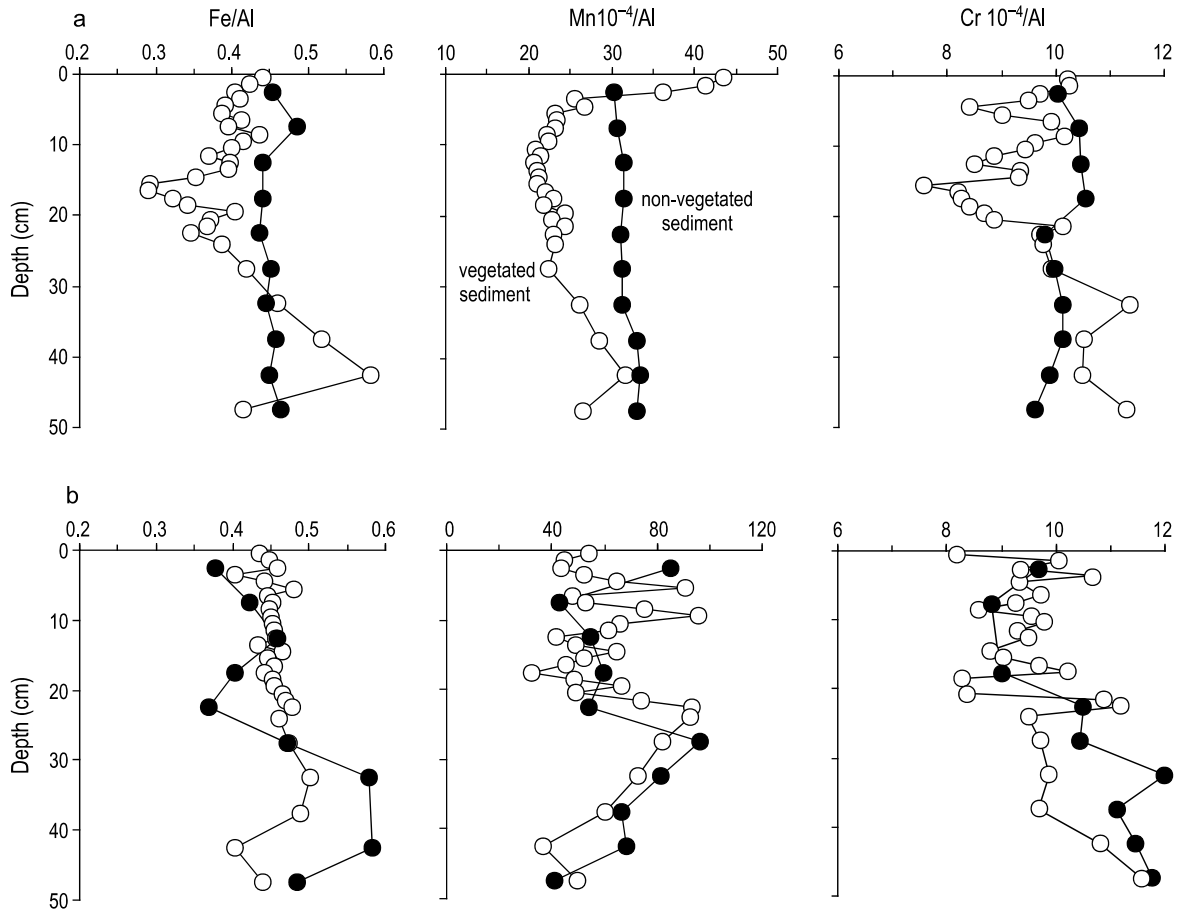


Figure 2. Depth profiles of Fe/Al, Mn/Al, and Cr/Al ratios in non-vegetated sediments and in areas colonized by *Halimione portulacoides* at the Rosário (a) and Pancas (b) marshes.

Figura 2. Perfiles de profundidad de las razones Fe/Al, Mn/Al y Cr/Al en los sedimentos sin vegetación y en las zonas colonizadas por *Halimione portulacoides* en las marismas de Rosário (a) y Pancas (b).

consisting of a smooth decrease towards deeper sediments: 3.5–0.4% and 11–4.3% in Pancas and Rosário, respectively. In Pancas, sediments colonized by *H. portulacoides* showed a similar Fe_{HYD} profile, decreasing from 10.8% in subsurface sediments to 4.5% at 27 cm depth. Two peaks were found in vegetated Rosário sediments: 9.2% at 8.5 cm and 7.2% at 32.5 cm below the rooting zone. The Mn_{HYD} depth profile was similar in vegetated and non-vegetated sediments from each marsh but showed much higher concentrations in Pancas (max. 63.5%). A similar profile consisting of a gradual decrease from the surface (1.4–1.6%) to deeper layers (0.66–0.83%) was found for Cr_{HYD} in Rosário for both non-vegetated and colonized sediments. In Pancas, the depth variations of Cr_{HYD} changed between a gradual decrease in non-vegetated sediments (from 5.0% to 2.0%) and a scattered profile in areas colonized by *H. portulacoides* (1.7–3.4%).

Metals in below-ground biomass

The comparison of Fe, Mn, and Cr concentrations in below-ground biomass of *H. portulacoides* from Rosário and

9.2% a 8.5 cm y 7.2% a 32.5 cm, debajo de la zona de raíces. El perfil de profundidad de Mn_{HYD} resultó similar en los sedimentos con y sin vegetación de cada marisma, pero sus concentraciones fueron mucho mayores en Pancas (máx. 63.5%). En Rosário se encontró un perfil similar de Cr_{HYD} para los sedimentos con y sin vegetación, consistente en un decremento gradual desde la superficie (1.4–1.6%) hacia niveles más profundos (0.66–0.83%). En Pancas las variaciones con la profundidad de Cr_{HYD} cambiaron de una reducción gradual en los sedimentos sin vegetación (de 5.0% a 2.0%) a un perfil disperso en las zonas colonizadas por *H. portulacoides* (1.7–3.4%).

Metales en la biomasa subterránea

En la figura 3 se comparan las concentraciones de Fe, Mn y Cr en la biomasa subterránea de *H. portulacoides* de Rosário y Pancas, con las de sus sedimentos correspondientes. En ambas marismas los perfiles de Fe en la biomasa subterránea mostraron incrementos significativos (máx. 23% en Rosário y 13% en Pancas), excediendo los valores encontrados en sedimentos. El

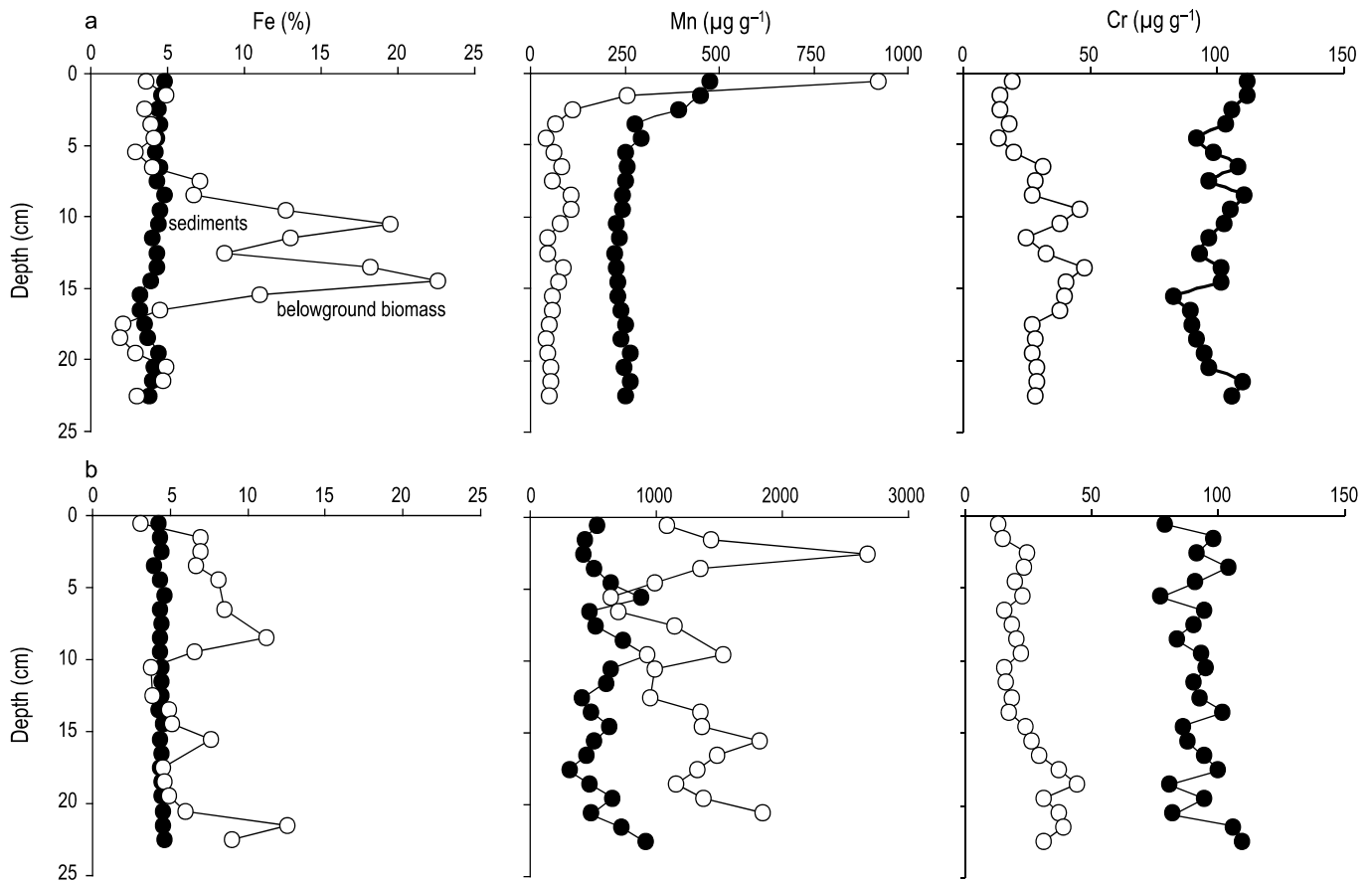


Figure 3. Depth profiles of Fe (%), Mn, and Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$) concentrations in sediments colonized by *Halimione portulacoides* and in below-ground biomass from the Rosário (a) and Pancas (b) marshes.

Figura 3. Perfiles de profundidad de las concentraciones de Fe (%), Mn y Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$) en los sedimentos colonizados por *Halimione portulacoides* y en la biomasa subterránea de las marismas de Rosário (a) y Pancas (b).

Pancas with the corresponding sediments is shown in figure 3. At both marshes, Fe profiles in below-ground biomass showed pronounced increases (max. 23% in Rosário and 13% in Pancas), exceeding the values found in sediments. A less clear pattern was observed for Mn in Pancas, where values in below-ground biomass ($40\text{--}255 \mu\text{g g}^{-1}$) were lower than concentrations in sediments, while in Rosário a scattered depth variation was found with higher levels ($693\text{--}3413 \mu\text{g g}^{-1}$) in root material. The depth variation of Cr concentrations in below-ground biomass of *H. portulacoides* was less pronounced than that of Fe and Mn, and levels were 2–7 times lower than values in the respective sediments of both marshes. Despite the lower Cr retention in roots, a maximum concentration was found between 10 and 17 cm depth in Rosário, while in Pancas levels increased towards the basal roots (23 cm).

Discussion

Our results showed that the root activity of salt-marsh plants acidifies the sediments owing to the release of oxygen and organic exudates at subsurface layers. The higher below-ground biomass of *H. portulacoides* in Rosário and the

Mn presented a less clear pattern in Pancas, where the values in the below-ground biomass ($40\text{--}255 \mu\text{g g}^{-1}$) were lower than the concentrations in the sediments, while in Rosário a scattered depth variation was observed with higher levels ($693\text{--}3413 \mu\text{g g}^{-1}$) in the root material. The variation with depth of the concentrations of Cr in the below-ground biomass of *H. portulacoides* was less pronounced than that of Fe and Mn, and the levels were two to seven times lower than the values in the sediments of both marshes. Despite the lower Cr retention in roots, a maximum concentration was recorded between 10 and 17 cm depth in Rosário, while in Pancas the levels increased towards the basal roots (23 cm).

Discussion

Our results show that the activity of the roots of salt-marsh plants acidifies the sediments due to the release of oxygen and organic exudates to the subsurface layers. The greater below-ground biomass of *H. portulacoides* in Rosário and the consequent increase in the concentration of dissolved oxygen amplified this signal. The minimum pH

consequent enhanced concentration of dissolved oxygen had magnified this signal. The pH minimum just below the oxygen peak maximum resulted mainly from Fe(II) oxidation. According to Sundby *et al.* (2003), the fast oxidation of Fe(II) in the immediate vicinity of the root surface creates a sharp concentration gradient and drives a flux of dissolved Fe(II) towards the root. In fact, an increase in Fe concentration (five fold) was observed in roots at this depth. Iron oxyhydroxides would then accumulate on the root surface and in the sediment adjacent to the root. The uptake mechanism should follow the steps proposed for the formation of Fe-plaques and Fe-rich concretions around roots (St-Cyr and Campbell 1996, Hansel *et al.* 2001): as plants uptake water and nutrients the reduced Fe species are moved towards the rooting zone and are accumulated in surrounding sediments and in roots. The lower Mn concentrations in both vegetated and non-vegetated sediments from Rosário suggest a minor contribution of the Mn cycle to the diagenetic processes. In Pancas, sediments are dominated biogeochemically by both Fe(II)/Fe(III) and Mn(II)/Mn(IV) redox pairs. The distinct behaviour of both marshes concerning the Fe and Mn chemistry was also evidenced in levels recorded in roots. As a result of the active participation of Fe and Mn in diagenetic processes in Pancas, roots exhibited higher concentrations of both metals. A minor role of the sulphide fraction (AVS) in the chemistry of rooting sediments was found in Tagus marshes with almost undetectable levels, unlike that observed in several North American wetland areas (Kostka and Luther 1995). At layers below the rooting zone, sulphate was the main electron acceptor in diagenetic reactions involving organic matter oxidation (Madureira *et al.* 1997). The absence of a vertical trend in the Fe/Al, Mn/Al, and Cr/Al ratios for sediments colonized by *H. portulacoides* suggests that root-sediment interactions, such as release of molecular oxygen and exudates (Jones 1998), had a minor effect on the redistribution of these elements in the rooting sediments. A similar conclusion was evidenced by the reduction of Ni and Cr in the abundant Fe-oxide precipitates around the roots (Vale *et al.* 2003).

The depth variation of metals in below-ground biomass showed that Fe and Mn concentrations exhibited a broad range of values (e.g., Fe from 1.9% to 23% in Rosário, and Mn from 639 to 3413 $\mu\text{g g}^{-1}$ in Pancas), while Cr showed a relatively narrow variation range (e.g., 13–44 $\mu\text{g g}^{-1}$ in Pancas). The variations of accumulated metals at 1-cm depth resolution point to the different availability of metals in pore waters along the sediment column. Availability is possibly induced by root-sediment interactions, stressing the adaptive responses of the plant to the environmental conditions. The retention of Cr in below-ground biomass of *H. portulacoides* was 3–8 times lower than in the respective sediments from both marshes. The weak removal from the sediment is in agreement with several studies evidencing that roots retain small quantities of this metal (Windham *et al.* 2003, Almeida *et al.* 2004). Although dissolved oxygen was present in rooting sediments, Cr may be available in the less reactive form, Cr(III). The reduction

justo debajo del máximo pico de oxígeno se debe principalmente a la oxidación del Fe(II). Según Sundby *et al.* (2003), la oxidación rápida del Fe(II) cerca de la superficie de las raíces produce un fuerte gradiente de concentración e impulsa un flujo de Fe(II) disuelto hacia éstas. De hecho, se observó un incremento (de cinco veces) en la concentración de Fe en las raíces a esta profundidad, acumulándose oxihidróxidos de Fe en su superficie y en el sedimento circundante. El mecanismo de asimilación debería seguir los pasos propuestos para la formación de placas y concreciones ricas de Fe alrededor de las raíces (St-Cyr y Campbell 1996, Hansel *et al.* 2001): cuando las plantas asimilan agua y nutrientes, las especies de Fe reducidas se trasladan hacia la zona de raíces y se acumulan en los sedimentos circundantes y en las raíces. Las menores concentraciones de Mn en los sedimentos con y sin vegetación de Rosário indican una contribución menor del ciclo del Mn a los procesos diagenéticos. En Pancas los sedimentos se encuentran biogeoquímicamente dominados por los pares redox Fe(II)/Fe(III) y Mn(II)/Mn(IV). El distinto comportamiento de ambas marismas en cuanto a la química del Fe y Mn también se evidenció en los niveles registrados en las raíces. Como resultado de la participación activa del Fe y Mn en los procesos diagenéticos en Pancas, las raíces presentaron mayores concentraciones de ambos metales. En las marismas del Tajo la fracción de sulfuros (AVS) mostró un papel de menor importancia en la química de los sedimentos con raíces, con niveles casi indetectables, a diferencia de lo encontrado en varias zonas de humedales en Norteamérica (Kostka y Luther 1995). Por debajo de la zona de raíces, el sulfato fue el principal receptor de electrones en las reacciones diagenéticas que involucran la oxidación de materia orgánica (Madureira *et al.* 1997). La ausencia de una tendencia vertical en las razones Fe/Al, Mn/Al y Cr/Al para los sedimentos colonizados por *H. portulacoides* sugiere que las interacciones entre raíces y sedimentos, como la liberación de oxígeno molecular y exudados (Jones 1998), tuvieron un menor efecto sobre la redistribución de estos elementos en los sedimentos entre las raíces. Se ha evidenciado una conclusión similar por la reducción de Ni y Cr en los abundantes precipitados de los óxidos de Fe alrededor de las raíces (Vale *et al.* 2003).

La variación con la profundidad de los metales en la biomasa subterránea indicó que las concentraciones de Fe y Mn mostraron un amplio intervalo de valores (e.g., el Fe de 1.9% a 23% en Rosário, y el Mn de 639 a 3413 $\mu\text{g g}^{-1}$ en Pancas), mientras que el Cr mostró un intervalo de variación relativamente pequeño (e.g., 13–44 $\mu\text{g g}^{-1}$ en Pancas). Las variaciones en la acumulación de metales, a una resolución de profundidad de 1 cm, indican una diferente disponibilidad de los metales en las aguas intersticiales a lo largo de la columna de sedimentos. Es posible que la disponibilidad sea inducida por las interacciones entre raíces y sedimentos, acentuando las respuestas adaptativas de la planta a las condiciones ambientales. La retención de Cr en la biomasa subterránea de *H. portulacoides* fue de tres a ocho veces menor que en los sedimentos

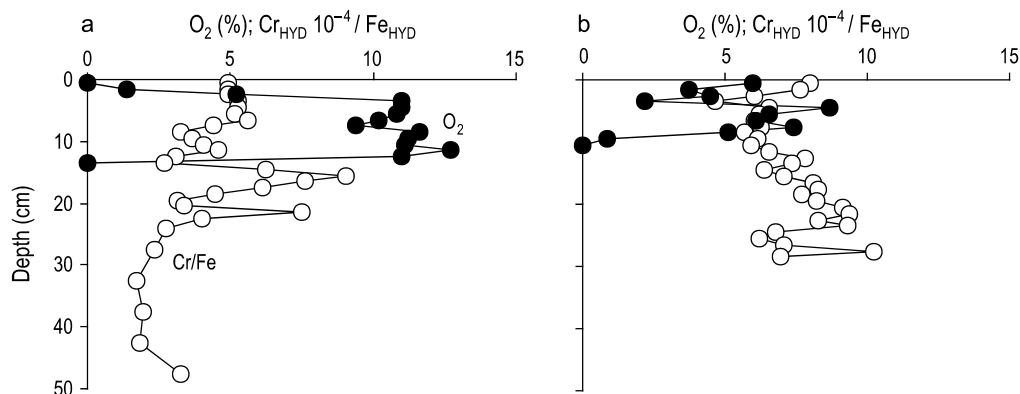


Figure 4. Depth profiles of $\text{Cr}_{\text{HYD}}/\text{Fe}_{\text{HYD}}$ (weight basis) and dissolved oxygen (%) in sediments colonized by *Halimione portulacoides* from the Rosário (a) and Pancas (b) marshes.

Figura 4. Perfiles de profundidad de $\text{Cr}_{\text{HYD}}/\text{Fe}_{\text{HYD}}$ (peso) y del oxígeno disuelto (%) en los sedimentos colonizados por *Halimione portulacoides* de las marismas de Rosário (a) y Pancas (b).

of Cr(VI) to Cr(III) may have occurred via organic matter oxidizable forms and/or Mn oxides (Kim *et al.* 2002, Suñe *et al.* 2007). Plants may also be able to reduce the hexavalent Cr by a detoxification reaction that very likely occurs in roots, and that may be catalyzed by Cr reductases similar to those found in bacteria (Cervantes *et al.* 2001). In fact, Vale *et al.* (2003) suggested that Cr occurs in less available soluble forms in the rhizosphere, since they found a decrease in abundant Fe-oxide precipitates (12–19% of Fe) around the roots. Below the oxygen maximum, roots still did not accumulate Cr, suggesting that Fe(II) may have reduced hexavalent Cr via chemical or biological means (Fendorf *et al.* 2000). Iron oxyhydroxides are also known to retain Cr in their structure (Hansel *et al.* 2003). In order to better determine the changes of Cr associated with the Fe oxyhydroxide fraction, the concentration of Cr_{HYD} was normalized to the respective Fe_{HYD} on a weight basis (fig. 4). A sharp increase in $\text{Cr}_{\text{HYD}}10^{-4}/\text{Fe}_{\text{HYD}}$ ratios was found when oxygen is depleted and Fe augments in below-ground biomass. Previous studies performed by Sundby *et al.* (2003) showed that Fe(II) is abundantly present in this suboxic layer. This environment generates favourable conditions for the reduction of Cr(VI) by Fe(II). The reduction and immobilization of Cr is a result of a coupled biotic-abiotic reaction pathway, in which Fe(II) catalyzes the reduction of Cr(VI) to Cr(III) (Wittbrodt and Palmer 1996, Wielinga *et al.* 2001). Below this layer Cr exists mainly as its trivalent ion since an effective reduction through S^{2-} or Fe(II)S has occurred.

References

- Aldrich MV, Gardea-Torresdey JL, Peralta-Vide JR, Parsons JG. 2003. Uptake and reduction of Cr(VI) to Cr(III) by mesquite (*Prosopis* spp.): Chromate - Plant interaction in hydroponics and solid media studied using XAS. *Environ. Sci. Technol.* 37: 1859–1864.
- Almeida C, Mucha A, Vasconcelos M. 2004. Influence of the sea rush *Juncos maritimus* on metal concentration and speciation in estuarine sediment colonized by the plant. *Environ. Sci. Technol.* 38: 3112–3119.

respectivos de ambas marismas. Esta débil remoción del sedimento concuerda con varios estudios que han mostrado que las raíces retienen cantidades pequeñas de este metal (Windham *et al.* 2003, Almeida *et al.* 2004). A pesar de la presencia del oxígeno disuelto en los sedimentos con raíces, el Cr puede estar disponible en su forma menos reactiva, Cr(III). La reducción de Cr(VI) a Cr(III) puede haber sucedido mediante las formas oxidables de materia orgánica y/o los óxidos de Mn (Kim *et al.* 2002, Suñe *et al.* 2007). Es posible que las plantas también puedan reducir el Cr hexavalente mediante una reacción de desintoxicación que muy probablemente ocurre en las raíces, y que puede ser catalizada por reductasas del Cr similares a las que se encuentran en bacterias (Cervantes *et al.* 2001). De hecho, Vale *et al.* (2003) sugirieron que el Cr ocurre en formas solubles menos disponibles en la rizosfera, donde registraron una reducción en los precipitados de los óxidos de Fe (12–19% de Fe) alrededor de las raíces. Por debajo del máximo de oxígeno, las raíces tampoco acumularon el Cr, lo que indica que el Fe(II) puede haber reducido el Cr hexavalente por medios químicos o biológicos (Fendorf *et al.* 2000). Se sabe que los oxihidróxidos de Fe retienen el Cr en su estructura (Hansel *et al.* 2003). Para determinar mejor los cambios del Cr relacionados con la fracción de los oxihidróxidos de Fe, se normalizó la concentración de Cr_{HYD} con base al peso respectivo de Fe_{HYD} (fig. 4). Se observó un fuerte incremento en las razones $\text{Cr}_{\text{HYD}}10^{-4}/\text{Fe}_{\text{HYD}}$ al agotarse el oxígeno y aumentar el Fe en la biomasa subterránea. Sundby *et al.* (2003) mostraron que el Fe(II) es muy abundante en esta capa subóxica, donde se generan condiciones favorables para la reducción del Cr(VI) por el Fe(II). La reducción e inmovilización del Cr es resultado de una reacción biótica-abiótica acoplada, en la cual el Fe(II) cataliza la reducción del Cr(VI) a Cr(III) (Wittbrodt y Palmer 1996, Wielinga *et al.* 2001). Por debajo de esta capa el Cr existe principalmente como su ión trivalente una vez que se ha dado su reducción efectiva por el S^{2-} o Fe(II)S.

Traducido al español por Christine Harris.

- Beukes JP, Pienaar JJ, Lachmann G, Giesekke EW. 1999. The reduction of hexavalent chromium by sulphite in wastewater. *Water S.A.* 25: 363–369.
- Caçador I, Vale C. 2001. Salt marshes. In: Prasad M (ed.), *Metals in the Environment*. Marcel Dekker, Hyderabad, pp. 95–115.
- Caçador I, Vale C, Catarino FM. 1996a. Accumulation of Zn, Pb, Cu, Cr and Ni in sediments between roots of the Tagus Estuary salt marshes, Portugal. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 42: 393–403.
- Caçador I, Vale C, Catarino F. 1996b. The influence of plants on concentration and fractionation of Zn, Pb and Cu in salt marsh sediments (Tagus Estuary, Portugal). *J. Aquat. Ecosyst. Health.* 5: 193–198.
- Caetano M, Vale C. 2002. Retention of arsenic phosphorus in iron-rich concretions of Tagus salt marshes. *Mar. Chem.* 79: 261–271.
- Caetano M, Fonseca N, Cesário R, Vale C. 2007. Mobility of Pb in salt marshes recorded by total content and stable isotopic signature. *Sci. Total Environ.* 380: 93–101.
- Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Guzmán JC, Moreno-Sánchez R. 2001. Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 335–347.
- Chester R, Hughes M. 1967. A chemical technique for the separation of ferro-manganese minerals, carbonate minerals and adsorbed trace elements from pelagic sediments. *Chem. Geol.* 2: 249–262.
- Clothier BR, Green SR. 1997. Roots: The big movers of water and chemicals in soil. *Soil Sci.* 162: 534–543.
- Fendorf S, Wielinga BW, Hansel CM. 2000. Chromium transformations in natural environments: The role of biological and abiological processes in chromium (VI) reduction. *Int. Geol. Rev.* 42: 691–701.
- Gardea-Torresdey JL, De La Rosa G, PeraltaVidea JR, Montes M, Cruz-Jiménez G, Cano-Aguilera I. 2005. Differential uptake and transport of trivalent and hexavalent chromium by tumbleweed (*Salsola kali*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48: 225–232.
- Hansel CM, Fendorf SE, Sutton M, Newville. 2001. Characterization of Fe plaque and associated metals on the roots of mine-waste impacted aquatic plants. *Environ. Sci. Technol.* 35: 3863–3868.
- Hansel CM, Wielinga BW, Fendorf S. 2003. Fate and stability of Cr following reduction by microbially generated Fe(II). http://www.ssrsl.siac.stanford.edu/research/highlights_archive/chromium.html.
- Jacob D, Otte M. 2003. Conflicting processes in the wetland plant rhizosphere: Metal retention or mobilization? *Water Air Soil Pollut.* 3: 91–104.
- Jones D. 1998. Organic acids in the rhizosphere: A critical review. *Plant Soil* 205: 24–44.
- Kim JG, Dixon JB, Chusuei CC, Deng Y. 2002. Oxidation of chromium (III) to (VI) by manganese oxides. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 306–315.
- Kostka JE, Luther GW. 1995. Seasonal cycling of Fe in saltmarsh sediments. *Biogeochemistry* 29: 159–181.
- Loyaux-Lawniczak S, Refait P, Ehrhardt JJ, Lecomte P, Génin JM. 2000. Trapping during the reduction of chromate ions by Fe(II)-Fe(III) hydroxysalt green rusts. *Environ. Sci. Technol.* 34: 438–443.
- Madureira M, Vale C, Gonçalves M. 1997. Effect of plants on sulphur geochemistry in the Tagus salt-marshes sediments. *Mar. Chem.* 58: 27–37.
- Meagher R. 2000. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 153–162.
- Micaelo C, Válega M, Vale C, Pereira E, Duarte A, Caçador I. 2001. Evidence for concentration of anthropogenic mercury in salt marsh sediments. *Cienc. Mar.* 29: 447–456.
- Otte R. 1991. Heavy metals and arsenic in vegetation of salt marshes and flood plains. Ph.D. thesis, Free University, Amsterdam.
- Pettine M, D’Ottone L, Campanella L, Millero FJ, Passino R. 1998. The reduction of chromium (VI) by iron (II) in aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62: 1509–1519.
- Rantala R, Loring D. 1975. Multi-element analysis of silicate rocks and marine sediments by atomic absorption spectrophotometry. *Atom. Absorp. Newslett.* 14: 117–120.
- St-Cyr L, Campbell GC. 1996. Metals (Fe, Mn, Zn) in the root plaque of submerged aquatic plant collected *in situ*: Relations with metal concentrations in the adjacent sediments and in the root tissue. *Biogeochemistry* 33: 45–76.
- Sundby B, Vale C, Caetano M, Luther GW. 2003. Redox chemistry in the root zone of a salt marsh sediment in the Tagus Estuary, Portugal. *Aquat. Geochem.* 9: 257–271.
- Sundby B, Caetano M, Vale C, Gobeil C, Luther GW, Nuzzio DB. 2005. Root-induced cycling of lead in salt marsh sediments. *Environ. Sci. Technol.* 39: 2080–2086.
- Suñe N, Sanchez G, Caffaratti S, Maine MA. 2007. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environ. Pollut.* 145: 467–473.
- Vale C, Caetano M, Raimundo J. 2003. Incorporation of trace elements in iron-rich concretions around plant roots of Tagus Estuary salt marshes (Portugal). *J. Soils Sed.* 3: 208–212.
- Wielinga B, Mizuba BM, Hansel CM, Fendorf S. 2001. Iron promoted reduction of chromate by dissimilatory iron-reducing bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 35: 522–527.
- Williams J. 2002. Phytoremediation in wetland ecosystems: Progress, problems, and potential. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21: 607–635.
- Windham L, Weis J, Weis P. 2003. Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis* (common reed). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 56: 63–72.
- Windom HL, Schropp SJ, Calder FD, Ryan JD, Smith RG, Burney LC, Lewis FG, Rawlinson CH. 1989. Natural trace metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments of the southeastern United States. *Environ. Sci. Technol.* 23: 314–20.
- Wittbrodt P, Palmer C. 1996. Effect of temperature, ionic strength, background electrolytes, and Fe(III) on the reduction of hexavalent chromium by soil humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 30: 2470–2477.
- Zayed AM, Terry N. 2003. Chromium in the environment: Factors affecting biological remediation. *Plant Soil* 249: 139–156.
- Zhang J, Li X. 1987. Chromium pollution of soil and water in Jinzhou. *Chin. J. Prev. Med.* 21: 262–264.

Recibido en febrero de 2008;
aceptado en mayo de 2008.