

Retention and partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Sarcocornia fruticosa* from two Portuguese salt marshes

Retención y partición de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Sarcocornia fruticosa* de dos marismas de Portugal

M Martins*, AM Ferreira, C Vale

IPIMAR-INRB, National Institute of Biological Resources, Av. Brasília, 1449-006 Lisbon, Portugal.

*E-mail: mmartins@ipimar.pt

Abstract

Sixteen PAH compounds (containing three to six rings) were quantified in sediments from the Rosário and Mitrena salt marshes in the Tagus and Sado estuaries, respectively, colonized by *Sarcocornia fruticosa*, and in belowground and aboveground plant tissues. Sediments from Rosário presented higher PAH concentrations ($0.83\text{--}8.71\ \mu\text{g g}^{-1}$) than those from Mitrena ($0.22\text{--}1.63\ \mu\text{g g}^{-1}$). Levels in belowground plant tissues showed a pronounced contrast between the two marshes: $84\text{--}165$ and $0.15\text{--}0.43\ \mu\text{g g}^{-1}$, respectively. Belowground material in contaminated layers contained 9–55 times more PAHs than sediments, while ratios lower than one were obtained in lower contaminated layers. Five- and six-ring compounds predominated (60–75%) in sediments and belowground plant material from both sites. Aboveground plant tissues presented no differences in PAH concentrations ($0.17\text{--}0.18\ \text{ng g}^{-1}$) and composition in both marshes, only three- and four-ring compounds being detected. This narrow concentration range appears to indicate that atmospheric deposition is the predominant pathway of PAH accumulation in aerial plant tissues.

Key words: aboveground plant tissues, belowground plant tissues, polycyclic aromatic hydrocarbons, salt marshes, *Sarcocornia fruticosa*, sediments.

Resumen

Se cuantificaron 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs, por sus siglas en inglés; con tres a seis anillos) en sedimentos de las marismas de Rosário y Mitrena, de los estuarios del Tajo y el Sado, respectivamente, y en los tejidos subterráneos y aéreos de *Sarcocornia fruticosa*, una planta que habita en estas marismas. Los sedimentos de Rosário presentaron mayores concentraciones de PAHs ($0.83\text{--}8.71\ \mu\text{g g}^{-1}$) que los de Mitrena ($0.22\text{--}1.63\ \mu\text{g g}^{-1}$). Los niveles de PAHs en los tejidos vegetales subterráneos mostraron un contraste pronunciado entre los dos sitios: $84\text{--}165\ \mu\text{g g}^{-1}$ y $0.15\text{--}0.43\ \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. El material subterráneo de las capas contaminadas contuvo de 9 a 55 veces más PAHs que los sedimentos, mientras que en las capas menos contaminadas se obtuvieron razones menores a 1. Los componentes con cinco y seis anillos predominaron (60–75%) en los sedimentos y en el material vegetal subterráneo de ambas marismas. En ninguna de ambas marismas los tejidos vegetales aéreos presentaron diferencias entre las concentraciones ($0.17\text{--}0.18\ \text{ng g}^{-1}$) ni en la composición de PAHs, detectándose sólo compuestos de tres y cuatro anillos. Este estrecho intervalo de concentraciones parece indicar que los depósitos atmosféricos son la vía predominante de acumulación de PAHs en los tejidos aéreos de las plantas.

Palabras clave: hidrocarburos aromáticos policíclicos, marismas, *Sarcocornia fruticosa*, sedimentos, tejidos vegetales aéreos, tejidos vegetales subterráneos.

Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of compounds composed of two or more fused aromatic rings originated from natural and anthropogenic sources (Colombo *et al.* 2005). The PAHs found in urbanized estuarine sediments are mainly of pyrolytic origin and from accidental oil spills (Lin *et al.* 2002, Zhang *et al.* 2004, Blanco *et al.* 2006). Several studies have reported the presence of PAHs in vegetables and halophytic plants in salt marshes (e.g., Kipopoulou *et al.* 1999, Gao and Zhu 2004, Watts *et al.* 2005, Martins *et al.* 2008). Two pathways in the accumulation of PAHs by plants have been

Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) son un grupo de compuestos formados por dos o más anillos aromáticos fusionados, de origen natural o antropogénico (Colombo *et al.* 2005). Los PAHs en los sedimentos estuarinos urbanos son principalmente de origen pirolítico y de derrames accidentales de petróleo (Lin *et al.* 2002, Zhang *et al.* 2004, Blanco *et al.* 2006). Varios trabajos han reportado la presencia de PAHs en vegetales y plantas halófitas de marismas (e.g., Kipopoulou *et al.* 1999, Gao y Zhu 2004, Watts *et al.* 2005, Martins *et al.* 2008). Se han identificado dos vías para la acumulación de

identified. The compounds may enter the plants by partitioning from contaminated sediments and soils to roots and transported into the shoot (Simonich and Hites 1995). Duration and intensity of the PAH exposure (Meudec *et al.* 2006), lipophilicity, and solubility of the compounds influence the accumulation (Wild and Jones 1992, Kipopoulou *et al.* 1999). Several studies have also pointed to atmospheric deposition on the waxy leaf cuticle by particle or gas-phase forms as an important PAH accumulation pathway in plants (Harner and Bidleman 1998, Kipopoulou *et al.* 1999, Sharma *et al.* 2007). Consequently, this paper compares the levels and composition of PAHs in above- and belowground tissues of *Sarcocornia fruticosa* from two salt marshes with different sediment contamination. Uptake by roots and translocation to aboveground plant tissues of PAHs were examined.

Material and methods

Study area

The two salt marshes studied, Rosário and Mitrena, are located 50 km apart in the Tagus and Sado estuaries, respectively, and subjected to anthropogenic pressures from the industrial areas of the cities of Barreiro and Setúbal, respectively. Both marshes are characterized by a typical zonation with homogenous stands of *Spartina maritima*, *Sarcocornia fruticosa*, and *Halimione portulacoides*, and are inundated twice a day by salt water due to tidal action (2–4 m of tidal amplitude). Plants showed no evidence of mortality.

Sampling

Six sediment cores of 25 cm in length from pure stands of *S. fruticosa* were sampled at Rosário and Mitrena in April 2005. One core was sliced into 5-cm-thick layers, and belowground plant tissues and sediments were separated, dried, and weighed for the determination of belowground biomass following the methodology described by Gross *et al.* (1991). The other five cores were sliced *in situ* into 2-cm-thick layers and stored in aluminium foil. In the laboratory, the belowground plant material of each layer was carefully separated from the sediment under a flux of water using a 212- μ m mesh and sieved to remove any adhering particles. Sediments and belowground plant material from each depth layer of the five cores were combined into two sets of composite samples.

Aboveground plant tissues were removed at ground level, washed with water to remove dust and sediment particles, and stored in aluminium foil. Sediments and below- and aboveground plant material were oven dried at 40°C. Approximately 300 g of sediments and 3–5 g of above- and belowground plant material from each sample were homogenized in a mortar for further analysis.

PAHs en las plantas. Pueden introducirse a partir de sedimentos y suelos contaminados a través de las raíces y hacia los brotes de las plantas (Simonich y Hites 1995). La duración e intensidad de la exposición (Meudec *et al.*, 2006), así como la lipofilia y solubilidad de estos compuestos influyen su acumulación (Wild y Jones 1992, Kipopoulou *et al.* 1999). La otra vía importante para su acumulación en las plantas, ha sido identificada en varios estudios a través de los depósitos atmosféricos de partículas o formas gaseosas de los PAHs sobre la cutícula cerosa de sus hojas (Harner y Bidleman 1998, Kipopoulou *et al.* 1999, Sharma *et al.* 2007). En este trabajo se comparan los niveles y composición de los PAHs en los tejidos aéreos y subterráneos de *Sarcocornia fruticosa* de dos marismas con diferentes niveles de contaminación en sus sedimentos. Se examinó la asimilación de los PAHs por las raíces y su movilización hacia los tejidos aéreos de la planta.

Material y métodos

Área de estudio

Las dos marismas estudiadas se encuentran a 50 km de distancia una de la otra en los estuarios del Tajo (Rosário) y del Sado (Mitrena) y están sujetas a la presión antropogénica de las zonas industriales de las ciudades de Barreiro y Setúbal, respectivamente. Ambas marismas se caracterizan por una zonificación típica con bancos homogéneos de *Spartina maritima*, *Sarcocornia fruticosa*, y *Halimione portulacoides*, y se inundan dos veces al día con agua salada por efecto de las mareas (2–4 m de amplitud mareal). Las plantas no mostraron evidencias de mortalidad.

Muestreo

Se obtuvieron seis núcleos de sedimentos de 25 cm de largo de bancos exclusivos de *S. fruticosa* en las marismas de Rosário y Mitrena en abril de 2005. Un núcleo fue cortado en capas de 5 cm separando los tejidos vegetales enterrados de los sedimentos que fueron secadas y pesadas para determinar la biomasa subterránea mediante la metodología descrita por Gross *et al.* (1991). Los otros cinco núcleos fueron cortados *in situ* en capas de 2 cm que fueron guardadas en papel de aluminio. En el laboratorio, los materiales vegetales subterráneos fueron separados cuidadosamente del sedimento con agua corriente usando una malla de 212 μ m de luz, y tamizados para eliminar cualquier partícula adherida. Los sedimentos y los materiales vegetales subterráneos de cada capa de profundidad de los cinco núcleos se combinaron en dos juegos de muestras compuestas.

Los tejidos vegetales aéreos se retiraron del suelo, se lavaron con agua para eliminar polvo y partículas de sedimento, y fueron también guardadas en papel de aluminio. Los sedimentos y ambos materiales vegetales fueron secados en un horno a 40°C. Aproximadamente 300 g de sedimentos y de 3 a 5 g de material vegetal aéreo y subterráneo de cada muestra fueron homogenizados con un mortero para su análisis.

Analytical methodologies

Approximately 10 g of sediment and 3 g of above- and belowground plant material were spiked with 1 mL surrogate standards (SUPELCO) containing acenaphthene-d10 (0.408 $\mu\text{g mL}^{-1}$), pyrene-d10 (0.397 $\mu\text{g mL}^{-1}$), chrysene-d12 (0.397 $\mu\text{g mL}^{-1}$), and perylene-d12 (0.433 $\mu\text{g mL}^{-1}$), and Soxhlet extracted with acetone/n-hexane mixture for 36 h. The extract was concentrated by a rotatory evaporator and fractionated with a silica-alumina (1:1) glass column. The solvent was evaporated in a rotatory evaporator and then concentrated under a gentle stream of N_2 for analysis (Martins *et al.* 2008).

The determination of PAHs was performed on a GCQ Trace Finnigan gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) system with a 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm film thickness DB-5 MS column (Agilent, USA) in selected ion mode. The GC-MS conditions for sample analysis were as follows: the injection was performed by autosampler in the splitless mode at 280°C, maintaining transfer line and ion source temperature at 220°C. Helium was used as carrier gas at a flow of 1.0 mL min^{-1} . Initial oven temperature was 75°C, then ramped to 130°C at 20°C min^{-1} , followed by another ramp step to 320°C at a rate of 4°C min^{-1} , and held for 15 min. Before analysis, relevant standards were run to check column performance, peak height, and resolution. With each set of samples to be analyzed, a solvent blank, a standard mixture, and a procedural blank were run in sequence to check for contamination, peak identification, and quantification. Sixteen individual PAHs were analyzed: acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, and anthracene (containing three rings); fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, and chrysene (four rings); benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(e)pyrene, benzo(a)pyrene, and dibenzo(ah)anthracene (five rings); and indeno(1,2,3-cd)pyrene and benzo(g,h,i)perylene (six rings). Identification of the PAH compounds was based on the comparison of their GC-retention times and mass spectrum with appropriate individual standards. Concentrations of these individual PAHs was done using the internal standard peak area method and two calibration curves with nine points each, for each compound ranging within the intervals 0.05–3.0 and 1.3–54 ng g^{-1} . Total PAHs (tPAHs) is the sum of all analyzed compounds and all results are expressed on a dry weight basis.

Analytical quality control

For every set of 12 samples, a procedural blank was run to check for cross-contamination. None of the target compounds were detected in the procedural blanks for sediment and above- and belowground plant tissues. To improve the analytical quality, surrogate standards were used to balance the losses involved in the extraction and work-up. Surrogate standards in analyzed materials were determined with a good precision and high recoveries of 98.9% ($n = 5$). Quality control was obtained

Métodos analíticos

Se trataron aproximadamente 10 g de sedimentos y 3 g de material vegetal aéreo con 1 mL de estándares sustitutos (SUPELCO) que contenían acenafteno-d10 (0.408 $\mu\text{g mL}^{-1}$), pireno-d10 (0.397 $\mu\text{g mL}^{-1}$), criseno-d12 (0.397 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y perileno-d12 (0.433 $\mu\text{g mL}^{-1}$) y se extrajeron al Soxhlet con una mezcla de acetona/n-hexano por 36 h. El extracto se concentró por medio de un evaporador rotatorio y se fraccionó con una columna de vidrio de sílica-alúmina (1:1). El solvente se evaporó por medio de un evaporador rotatorio y luego se concentró bajo una corriente suave de N_2 para su análisis (Martins *et al.* 2008).

La determinación de PAHs se realizó en un sistema de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) GCQ Trace Finnigan con una columna MS DB-5 con película de 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm de grosor (Agilent, EUA) en modo de selección iónica. Las condiciones GC-MS para el análisis de las muestras fueron las siguientes: la inyección se realizó mediante un auto muestreador en modo sin desdoblamiento a 280°C y la temperatura de la fuente de iones y la línea de interfase fueron mantenidas a 220°C. Se utilizó He como gas transportador a un flujo de 1.0 mL min^{-1} . La temperatura inicial del horno fue de 75°C, después se elevó a 130°C a razón de 20°C min^{-1} , seguida por un incremento hasta 320°C a razón de 4°C min^{-1} , manteniéndose a esta última temperatura por 15 min. Antes del análisis se realizaron corridas con estándares relevantes para verificar el funcionamiento, la altura máxima y la resolución de la columna. Con cada juego de muestras se analizaron un blanco de solvente, una mezcla de estándares y un blanco de procedimiento para verificar la contaminación, la identificación máxima y la cuantificación. Se analizaron 16 PAHs individuales: acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno y antraceno, de tres anillos; fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno y criseno, de cuatro anillos; benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(e)pireno, benzo(a)pireno y dibenzo(ah)antraceno, de cinco anillos; e indeno(1,2,3-cd)pireno y benzo(g,h,i)perileno, de seis anillos. La identificación de estos compuestos se basó en la comparación de sus tiempos de retención y espectros de masas por GC con estándares individuales apropiados. Su concentración se realizó mediante el método del área de máximos estándares internos y usando dos curvas de calibración, con 9 puntos cada una, para cada compuesto en los intervalos de 0.05 a 3.0 ng g^{-1} y de 1.3 a 54 ng g^{-1} . Los PAHs totales (tPAH) fueron la suma de todos los compuestos analizados y todos los resultados se expresaron en base a peso seco.

Control de calidad de los análisis

Se procesó un blanco de procedimiento por cada doce muestras para verificar su contaminación. No se detectó ninguno de los compuestos objetivos en los blancos de procedimiento para sedimentos o para tejidos vegetales aéreos ni subterráneos. Para mejorar el control de calidad analítico se

analyzing the certified material SRM 1941b (NIST, USA). Recoveries and detection limits (calculated with a signal-to-noise ratio of 3:1 in a blank sample) of analyzed PAHs in the certified material are presented in table 1.

Statistical analysis

The nonparametric Wilcoxon matched pairs test (T) was used to evaluate the existence of significant differences ($\alpha = 0.05$) in PAH composition between sediments and belowground material from each salt marsh (Zar 1999).

Results

Belowground biomass and dissolved oxygen concentration

The belowground biomass of *S. fruticosa* was concentrated in the first 17 cm depth, with a maximum value of 1200 g m⁻² near the surface in Rosário and of 800 g m⁻² at 7.5 cm depth in Mitrena. The levels of dissolved oxygen in the sediments from Rosário varied between 67 and 120 µM in the first 17 cm depth, while those from Mitrena decreased with depth from 200 µM at the surface to undetected values at 15 cm depth.

Table 1. Recoveries and detection limits of the PAH compounds in the certified material SRM 1941b (NIST, USA).

Tabla 1. Recuperaciones y límites de detección de cada hidrocarburo aromático policíclico (PAH) en el material certificado de referencia SRM 1941b (NIST, EUA).

PAH compound	Recovery (%)	Detection limit (ng g ⁻¹)
Acenaphthylene	96	0.19
Acenaphthene	90	0.2
Fluorene	102	0.2
Phenanthrene	94	0.5
Anthracene	90	0.1
Fluoranthene	123	0.4
Pyrene	118	0.4
Benzo(a)anthracene	94	0.04
Chrysene	81	0.1
Benzo(b)fluoranthene	92	0.4
Benzo(k)fluoranthene	107	0.4
Benzo(e)pyrene	110	0.4
Benzo(a)pyrene	83	0.6
Dibenzo(ah)anthracene	100	0.5
Indeno (1,2,3-cd)pyrene	83	0.8
Benzo(g,h,i)perylene	90	0.7

usaron estándares sustitutos para balancear las pérdidas involucradas en la extracción y el manejo. Los estándares sustitutos en los materiales analizados presentaron buena precisión y altas recuperaciones (98.9%; $n = 5$). El control de calidad se obtuvo analizando material certificado SRM 1941b (NIST, EUA). Las recuperaciones y límites de detección (calculados con una proporción señal:ruido de 3:1 en un blanco de muestra) de los PAHs analizados en el material certificado se presentan en la tabla 1.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba no paramétrica de muestras pareadas de Wilcoxon (T) para evaluar la existencia de diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) en la composición de PAHs entre sedimentos y materiales vegetales subterráneos de cada marisma (Zar 1999).

Resultados

Biomasa subterránea y concentración de oxígeno disuelto

La biomasa subterránea de *S. fruticosa* se concentró en los primeros 17 cm de profundidad, con máximos de 1200 g m⁻² cerca de la superficie en Rosário y 800 g m⁻² a 7.5 cm de profundidad en Mitrena. Los niveles de oxígeno disuelto en los sedimentos de Rosário variaron entre 67 y 120 µM en los primeros 17 cm de profundidad, mientras que en Mitrena disminuyeron con la profundidad, de 200 µM en la superficie a valores indetectables a 15 cm de profundidad.

Concentraciones totales de PAHs en sedimentos y material vegetal subterráneo

Los sedimentos superiores de Rosário presentaron mayores concentraciones de PAHs (máx. 8.71 µg g⁻¹) que en Mitrena (máx. 1.63 µg g⁻¹), mientras que los sedimentos por debajo de los 10 cm mostraron valores similares en ambas marismas (0.22–1.69 µg g⁻¹; fig. 1). El material vegetal de los sedimentos superiores de Rosário contuvieron también mayores niveles de PAHs (máx. 165 µg g⁻¹) que los de Mitrena (máx. 0.27 µg g⁻¹), mientras que en las raíces provenientes de los sedimentos inferiores de ambas marismas se encontraron intervalos similares de concentración (0.27–1.63 µg g⁻¹).

Distribución relativa de PAHs en los sedimentos y material vegetal subterráneo

En general, los compuestos de cuatro y cinco anillos representaron más del 70% de los tPAH, tanto en los sedimentos como en el material vegetal subterráneo de las capas superior e inferior (tabla 2). No obstante, la distribución de PAHs por número de anillos difirió significativamente ($P < 0.05$) entre los sedimentos de las dos marismas: en los sedimentos superiores de Mitrena fueron más abundantes los compuestos

Total PAH concentrations in sediments and belowground plant tissues

Upper sediments in Rosário presented higher PAH concentrations (max. $8.71 \mu\text{g g}^{-1}$) than in Mitrena (max. $1.63 \mu\text{g g}^{-1}$), while sediments below 10 cm exhibited similar values in both marshes (0.22 – $1.69 \mu\text{g g}^{-1}$) (fig. 1). Belowground plant material from upper sediments also contained higher PAH levels in Rosário (max. $165 \mu\text{g g}^{-1}$) than in Mitrena (max. $0.27 \mu\text{g g}^{-1}$), whereas a similar concentration range was found in roots from lower sediments of both marshes (0.27 – $1.63 \mu\text{g g}^{-1}$).

Relative distribution of PAH compounds in sediments and belowground plant tissues

In general, the four- and five-ring compounds contributed to more than 70% of tPAHs, both in sediments and in belowground plant material of upper and deeper layers (table 2). However, the distribution of PAH ring compounds differed significantly ($P < 0.05$) between sediments from the two marshes: in upper sediments, three-ring compounds were more abundant in Mitrena and six-ring compounds in Rosário; in lower sediments, differences between sites were found for all groups. Roots also showed differences between Rosário and Mitrena in upper (four-, five-, and six-ring PAHs) and deeper (four- and five-ring PAHs) layers.

Sediment-root transfer

To evaluate the transfer of PAH compounds from sediment to belowground tissues of *S. fruticosa*, we calculated the ratio between the concentrations of three- to six-ring PAHs in belowground plant tissues and sediments in each depth layer (fig. 2). This ratio may be considered a bioconcentration factor (BCF). The BCFs for the less contaminated site (Mitrena) were lower than one for the four groups of compounds at all depths,

de tres anillos mientras que en Rosário lo fueron los de cinco; en los sedimentos inferiores se encontraron diferencias entre los sitios para todos los grupos. Las raíces mostraron también diferencias significativas entre Rosário y Mitrena en las capas superior (PAHs de cuatro, cinco y seis anillos) e inferior (PAHs de cuatro y cinco anillos).

Transferencia de PAHs de los sedimentos a las raíces

Para evaluar la transferencia de PAHs de los sedimentos a las tejidos vegetales subterráneos de *S. fruticosa* se calculó la razón entre las concentraciones de PAHs de tres y seis anillos en la materia vegetal subterránea y las de los sedimentos en cada capa de profundidad (fig. 2). Esta proporción puede ser considerada como un factor de bioconcentración (BCF, por sus siglas en inglés). Los BCFs en el sitio menos contaminado (Mitrena) fueron menores que 1 para los cuatro grupos de compuestos a todas las profundidades, mientras que en Rosário fueron en general inferiores a 1 por debajo de 10 cm, pero variaron de 9 a 55 en las capas superiores de sedimentos. En general, en cada capa los BCFs para los compuestos de tres anillos excedieron los de los otros tres grupos.

Niveles y distribución relativa de los PAHs en los tejidos aéreos de *S. fruticosa*

Los tejidos vegetales aéreos de ambos sitios mostraron concentraciones similares de PAHs (0.17 – $0.18 \mu\text{g g}^{-1}$) y los compuestos de tres y cuatro anillos contabilizaron 59% y 41% de los tPAH en Rosário y 53% y 47% en Mitrena, respectivamente. No se detectaron compuestos con cinco y seis anillos.

Discusión

Los resultados obtenidos en este estudio indican que los niveles de PAHs en la biomasa subterránea de *S. fruticosa* se

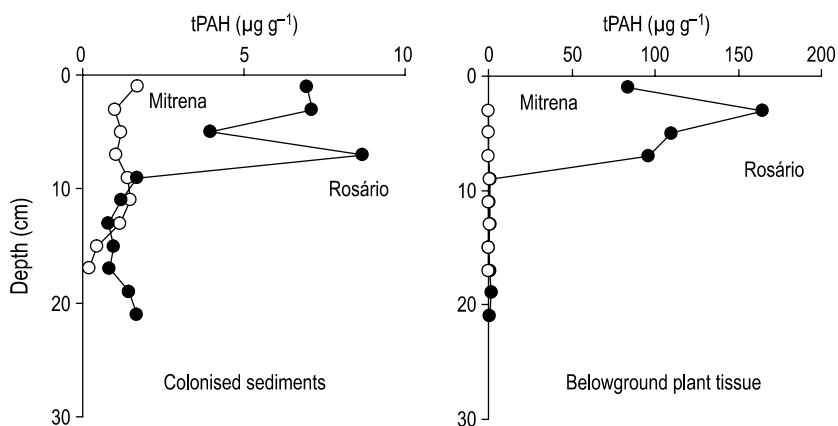


Figure 1. Depth profiles of total PAH concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) in colonized sediments and in belowground plant biomass from the Mitrena (\circ) and Rosário (\bullet) salt marshes.

Figura 1. Perfiles de profundidad de las concentraciones totales de PAHs ($\mu\text{g g}^{-1}$) en sedimentos colonizados y biomasa vegetal subterránea de las marismas de Mitrena (\circ) y Rosário (\bullet).

Table 2. Proportion of three- to six-ring PAHs (% tPAHs) in upper and deeper sediments and belowground plant tissues from the Rosário and Mitrena salt marshes.**Tabla 2.** Proporciones de PAHs de tres y seis anillos (% tPAH) en los sedimentos superiores y profundos, y los tejidos vegetales subterráneos de las marismas de Rosário y Mitrena.

PAHs (%)	Sediments		Belowground plant tissues	
	Rosário	Mitrena	Rosário	Mitrena
Upper layers (0–10 cm)				
3 rings	6.0 ± 0.7	12.2 ± 3.1	10.0 ± 2.2	17.2 ± 7.4
4 rings	35.7 ± 6.5	38.8 ± 6.1	25.0 ± 3.0	46.0 ± 5.3
5 rings	35.7 ± 2.9	34.2 ± 5.6	38.6 ± 2.5	26.8 ± 5.5
6 rings	22.7 ± 4.5	14.7 ± 2.2	26.3 ± 1.4	10.1 ± 1.2
Deeper layers (10–25 cm)				
3 rings	4.8 ± 1.0	10.5 ± 1.5	12.5 ± 5.9	14.9 ± 5.2
4 rings	33.0 ± 7.1	41.1 ± 3.0	39.3 ± 4.7	48.5 ± 5.5
5 rings	42.1 ± 8.8	32.8 ± 1.8	36.1 ± 4.2	28.2 ± 4.0
6 rings	20.1 ± 2.1	15.6 ± 1.5	12.2 ± 4.9	8.5 ± 1.9

whereas in Rosário they were in general inferior to unit below 10 cm, but varied from 9 to 55 in upper sediment layers. In each layer, the BCF for three-ring compounds generally exceeded the BCF for the other three groups.

PAH levels and relative distribution in aboveground plant tissues of S. fruticosa

The aboveground plant tissues from both sites exhibited equal PAH concentrations (0.17–0.18 $\mu\text{g g}^{-1}$), and the three- and four-ring compounds accounted for 59% and 41% of the tPAHs in Rosário, and for 53% and 47% in Mitrena, respectively. Five- and six-ring compounds were not detected.

Discussion

The results obtained in this study indicate that PAH levels in belowground biomass of *S. fruticosa* increased when the concentrations in sediments increased. This is in line with previous studies showing that PAH retention in roots of salt marsh plants (Collins *et al.* 2006, Meudec *et al.* 2006) and other vegetables (Simonich and Hites 1995, Fismes *et al.* 2002) depends on their concentrations in sediments or soils. However, the poor correlations between the levels of each compound in belowground plant tissues and sediments indicates that the transfer of PAHs from contaminated sediments to *S. fruticosa* roots was not the same for all the compounds analyzed.

The low BCFs (<1) obtained for low-contaminated layers indicates that only a small fraction of PAHs were transferred from sediments to roots. Furthermore, the transfer increased from heavier to lighter PAHs, indicating that sediment-root interactions were highly influenced by a phase-partitioning mechanism, in which heavier compounds tend to remain associated with sediments and lighter ones pass more easily

incrementaron al aumentar las concentraciones en los sedimentos, lo que coincide con trabajos anteriores que mostraron que la retención de los PAHs por las raíces de las plantas de marismas (Collins *et al.* 2006, Meudec *et al.* 2006) y otros vegetales (Simonich y Hites 1995, Fismes *et al.* 2002) depende de su concentración en los sedimentos o suelos. Sin embargo, las bajas correlaciones entre los niveles de cada compuesto en los tejidos vegetales subterráneos y los sedimentos indica que la transferencia de PAHs desde los sedimentos contaminados hacia las raíces de *S. fruticosa* no fue de la misma magnitud para todos los compuestos analizados.

Los bajos BCFs (<1) obtenidos para las capas poco contaminadas indican que sólo se transfirió una pequeña fracción de PAHs de los sedimentos a las raíces. Además, esta transferencia se incrementó de los PAHs más pesados a los menos pesados, lo que significa que las interacciones raíz-sedimento estuvieron fuertemente influenciadas por un mecanismo de partición de fases mediante el cual los compuestos más pesados tienden a permanecer asociados con los sedimentos y los más ligeros pasan más fácilmente a las raíces. Este patrón ha sido observado en varios trabajos (eg., Liste y Alexander 2000, Simonich y Hites 1995, Collins *et al.* 2006) y evidencia la diferente movilidad de los PAHs.

Este mecanismo de partición no se observó en las capas superiores contaminadas de sedimentos de Rosário. Los BCFs incrementaron para todos los grupos de PAHs hasta entre 9 y 55 al aumentar su disponibilidad en los sedimentos, pero los valores para los compuestos de cinco y seis anillos excedieron las razones obtenidas para los PAHs de cuatro anillos. Esta alteración no se presentó en sedimentos contaminados que no mostraron proporciones elevadas de compuestos más pesados, lo cual podría ser explicado por un súbito aporte de PAHs que no haya permitido su absorción por los sedimentos y, en consecuencia, se haya dado una mas efectiva asimilación por las

to roots. This pattern has been observed in several studies (e.g., Liste and Alexander 2000, Simonich and Hites 1995, Collins *et al.* 2006) and evidences the different mobility of PAH compounds.

This partitioning mechanism was not observed in the upper contaminated Rosário sediment. The BCFs for all the PAH groups increased to between 9 and 55 when availability in sediments increased, but the values for the five- and six-ring compounds exceeded the ratios for four-ring PAHs. This alteration had no correspondence in contaminated sediments that showed no elevated proportion of heavier compounds. A possible explanation is a sudden input of PAHs without allowing the adsorption capacity of sediments and, consequently, a more effective uptake by roots occurred (Simonich and Hites 1995, Collins *et al.* 2006). It is possible that five- and six-ring compounds may be linked to root epidermis and that three-ring compounds moved to the inner root (Wang and Jones 1994).

The absence of five- and six-ring compounds in the above-ground plant tissues is in agreement with the hypothesis of those compounds not being translocated upwards from roots (Kipopoulou *et al.* 1999, Watts *et al.* 2005). If translocation would be proportional to the levels that enter the roots, higher levels of three- and four-ring PAHs in *S. fruticosa* roots from Rosário should have resulted in higher levels in aboveground tissues. This pattern was not observed, since the levels in above-ground plant tissues from both sites were practically the same ($0.17\text{--}0.18\ \mu\text{g g}^{-1}$). The most plausible explanation for the PAH composition and levels in aboveground plant tissues is that atmospheric deposition is the predominant pathway of PAH accumulation in aerial plant tissues. Several studies have shown that leaves absorb three- and four-ring PAHs in vapour phases that can permeate into lipids directly and reside in the “inner” aerial plant tissues (Bacci *et al.* 1990, Kipopoulou *et al.* 1999, Howsam *et al.* 2001). Moreover, five- and six-ring compounds are preferentially associated with atmospheric particles that are deposited on leaves and remain adhered to the surfaces (Kipopoulou *et al.* 1999, Collins *et al.* 2006). That contribution was not quantified in this study because aerial plant tissues were washed before analyses, and consequently heavier compounds associated with the dust were removed (Yang *et al.* 2007). Apparently, the availability of PAHs in sediments and uptake by roots appears to have a minor effect on the levels existing in aboveground tissues of *S. fruticosa*.

Acknowledgements

This work was supported by MARE project QCA III (“Impactes ambientais e poluição”).

References

- Bacci E, Cerejeira MJ, Gaggi C, Chamello G, Calamari D, Vighi M. 1990. Bioconcentration of organic chemical vapours in plant leaves: The Azálea model. *Chemosphere* 21: 525–535.
- Blanco CG, Prego R, Azpiroz MDG, Fernández-Domínguez I. 2006. Characterization of hydrocarbons in sediments from Laxe Ria and

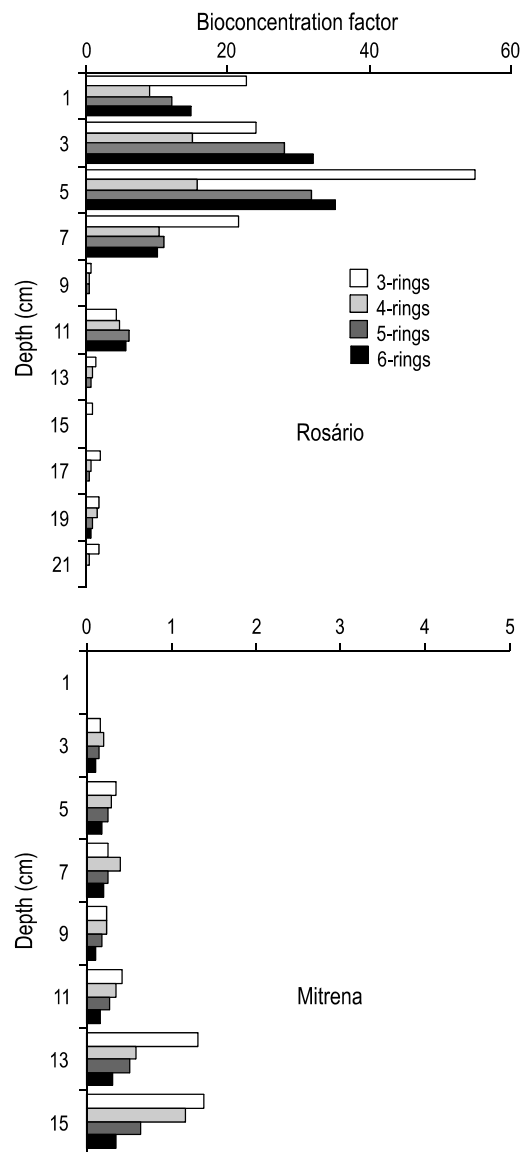


Figure 2. Bioconcentration factors for the Rosário and Mitrena salt marshes.

Figura 2. Factores de bioconcentración en las marismas de Rosário y Mitrena.

raíces (Simonich y Hites 1995, Collins *et al.* 2006). No debe excluirse la posibilidad de que los compuestos con cinco y seis anillos se encuentren enlazados a la epidermis de las raíces y que los de tres se hayan desplazado a su interior (Wang y Jones 1994).

La ausencia de compuestos de cinco y seis anillos en el material vegetal aéreo concuerda con la hipótesis de que tales compuestos no son transferidos más allá de las raíces (Kipopoulou *et al.* 1999, Watts *et al.* 2005). Si su transferencia hubiera sido proporcional a los niveles que entran a las raíces, entonces mayores niveles de PAHs de tres y cuatro anillos en las raíces de *S. fruticosa* de Rosário deberían haber resultado en mayores niveles en la materia vegetal aérea. No se observó este patrón; en cambio, los niveles en los tejidos aéreos de las

- their relationship with the *Prestige* oil spill (NW Iberian Peninsula). *Cienc. Mar.* 32: 429–437.
- Collins C, Fryer M, Grosso A. 2006. Plant uptake of non-ionic organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.* 40: 45–52.
- Colombo JC, Barreda A, Bilos C, Cappelletti N, Demichelis S, Lombardi P, Migoya MC, Skorupka C, Suárez G. 2005. Oil spill in the Río de La Plata estuary, Argentina. 1. Biochemical assessment of waters, sediments, soils and biota. *Environ. Pollut.* 134: 277–289.
- Fismes J, Perrin-Ganier C, Empereur-Bissonnet P, Morel JL. 2002. Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J. Environ. Qual.* 31: 1649–1656.
- Gao Y, Zhu L. 2004. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. *Chemosphere* 55: 1169–1178.
- Gross MF, Hardisky MA, Wolf PL, Klemas V. 1991. Relationship between aboveground and belowground biomass of *Spartina alterniflora* (smooth cordgrass). *Estuaries* 14: 180–191.
- Harner T, Bidleman TF. 1998. Octanol-air partition coefficient for describing particle/gas partitioning of aromatic compounds in urban air. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1494–1502.
- Howsam M, Jones KC, Ineson, P. 2001. PAHs associated with the leaves of three deciduous tree species. II. Uptake during a growing season. *Chemosphere* 44: 155–164.
- Kipopoulou AM, Manoli E, Samara C. 1999. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environ. Pollut.* 106: 368–380.
- Lin Q, Mendelsohn IA, Suidan MT, Lee K, Venosa AD. 2002. The dose-response relationship between No. 2 fuel oil and the growth of the salt marsh grass, *Spartina alterniflora*. *Mar. Pollut. Bull.* 44: 897–902.
- Liste HH, Alexander M. 2000. Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil. *Chemosphere* 40: 11–14.
- Martins M, Ferreira AM, Vale C. 2008. The influence of *Sarcocornia fruticosa* on retention of PAHs in salt marsh sediments (Sado Estuary, Portugal). *Chemosphere* 71: 1599–1606.
- Meudec A, Dussauze J, Deslandes E, Poupard N. 2006. Evidence for bioaccumulation of PAHs within internal shoot tissues by a halophytic plant artificially exposed to petroleum-polluted sediments. *Chemosphere* 65: 474–481.
- Sharma H, Jain VK, Khan ZH. 2007. Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the urban environment of Delhi. *Chemosphere* 66: 302–310.
- Simonich SL, Hites RA. 1995. Organic pollutant accumulation in vegetation. *Environ. Sci. Technol.* 29: 2905–2914.
- Wang M, Jones KC. 1994. Uptake of chlorobenzenes by carrots from spiked and sewage sludge-amended soil. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1260–1267.
- Watts AW, Ballester TP, Gardner KH. 2005. Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in salt marsh plants *Spartina* plantas de ambos sitios fueron prácticamente los mismos ($0.17\text{--}0.18\ \mu\text{g g}^{-1}$). La explicación más plausible para los niveles y composiciones de PAHs en los tejidos vegetales aéreos podría radicar en que los depósitos atmosféricos son la vía predominante para la acumulación de PAHs en esos tejidos de las plantas. Varios trabajos han mostrado que las hojas absorben PAHs de tres y cuatro anillos en sus fases de vapor, los cuales pueden permear a los lípidos directamente y residir en los tejidos aéreos "interiores" de las plantas (Bacci *et al.* 1990, Kipopoulou *et al.* 1999, Howsam *et al.* 2001). Además, los compuestos de cinco y seis anillos se encuentran asociados preferentemente a partículas atmosféricas depositadas sobre las hojas y que permanecen adheridas a su superficie (Kipopoulou *et al.* 1999, Collins *et al.* 2006). Tal contribución no fue cuantificada en este estudio ya que los tejidos vegetales aéreos fueron lavadas antes de ser analizadas eliminando los compuestos más pesados asociados al polvo. Aparentemente la disponibilidad de los PAHs en los sedimentos y su asimilación por las raíces parece tener un efecto menor en los niveles existentes en los tejidos aéreos de *S. fruticosa*.
- Agradecimientos**
- Este trabajo fue financiado por el proyecto MARE QCA III (“Impactes ambientais e poluição”).
- Traducido al español por Manuel Gardea-Ojeda.
-
- altiflora* grown in contaminated sediments. *Chemosphere* 62: 1233–1260.
- Wild SR, Jones KC. 1992. Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sluges: Screening for their potential to transfer to crop plants and livestock. *Sci. Total Environ.* 119: 85–119.
- Yang P, Chen J, Wang Z, Qiao X, Cai X, Tian F, Ge L. 2007. Contribution of deposited particles to pine needle polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Environ. Monit.* 9: 1248–1253.
- Zhang J, Cai L, Yuan D, Chen M. 2004. Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in mangrove surficial sediments of Deep Bay, China. *Mar. Pollut. Bull.* 49: 479–486.
- Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey, 662 pp.
- Recibido en febrero de 2008;
aceptado en agosto de 2008.*