

Gli isotopi stabili nell'acqua fra suolo, pianta e atmosfera

Francesca Scandellari^{1*} e Daniele Penna²

¹Facoltà di Scienze e Tecnologie - Libera Università di Bozen-Bolzano

²Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Firenze

Ricezione: 10 dicembre 2017; Accettazione: 31 gennaio 2018

Stable isotopes in the water within soil vegetation and atmosphere

Summary. This work aims to present the state of the art regarding the distribution of stable isotopes of oxygen and hydrogen in the water flowing within the soil-vegetation-atmosphere continuum. A special attention will be devoted to the fruit crops, although less research has been done in this field relative to other ecosystems.

The most up-to-date researches on climate change highlight the risk of extended drought periods throughout the European continent, and especially in the Mediterranean region. For this reason, the European community has already activated a series of actions to improve the resilience of the European society to future water scarcity. Although much is known already about the water fluxes on Earth, much more has to be unveiled, especially regarding water permanence in the soil and its flux from the soil to the atmosphere through plants. This is because many effects of the complex interactions between water and its environment still need to be fully comprehended. Many techniques are available to researchers to study water fluxes in the environment.

The analysis of stable isotopes of oxygen and hydrogen in water is one of them and is getting particularly popular because of the development of new, powerful techniques that allow continuous measurements directly in the field. We shortly introduce the topic reporting the background information regarding the stable isotopes, including the most important chemical-physical processes affecting the isotopic composition of water and the most common techniques to measure them. We explain how and why use stable isotopes in ecophysiology, agriculture and agroecological research. Stable isotopes are naturally occur-

ring alternative forms of a specific element. Hydrogen has two stable isotopes, ¹H and ²H, while oxygen has three, ¹⁶O, ¹⁷O and ¹⁸O, though only the former and the latter are commonly used for research. Because of their ubiquity and because they are natural constituents of water, they represent the perfect trace to follow its flow within ecosystems, even when it is not possible to directly measure the flux rate. We then dissect the agroecosystem presenting the main processes affecting the isotopic composition of water entering in, flowing through and exiting from the ecosystem. In particular, we discuss the dynamics of water in soil, by showing how the forces that push or pull water out of the soil and those that keep it in the system affect its isotopic composition. This is, probably, the environmental compartment that is known the least, not only because it is difficult to study, but also because of the high number of chemical, physical and biological factors that may have an effect on soil water isotopic composition. From the soil, the water is taken up by roots and transferred in huge amounts in the atmosphere. This flux does not only cause a huge withdrawal of water from the soil, pushing the farmers to artificially import it into the system by irrigation, but also creates air turbulences, which can deeply affect the local climatic conditions.

For space reasons, we only report the most important fluxes of water. Many more aspects should have been explained, but this would have produced a book instead of a review paper. Nonetheless, with this work, we hope to stimulate the interest of the reader to know more about the distribution of stable isotopes in agroecosystems and the usefulness of using them as a tool to study water fluxes in these systems.

Key words: water fluxes, hydrogen-2, oxygen-18, agricultural research, water use, vegetation.

* francesca.scandellari@unibz.it

Introduzione

È ormai esperienza comune osservare come negli ultimi anni le condizioni climatiche sia in Italia che nel mondo stiano cambiando. Destano particolare preoccupazione gli eventi siccitosi, sempre più prolungati ed intensi, che stanno diventando sempre più frequenti e non più legati esclusivamente alla stagione estiva. Inoltre, l'aumento della temperatura determina un aumento dell'evapotraspirazione e quindi un maggior rilascio di acqua in atmosfera aggravando le condizioni di siccità (Stagge *et al.*, 2017). La gestione dell'acqua è una priorità non solo a livello locale, in quanto condizioni siccitose sono state registrate negli ultimi anni su quasi tutto il territorio europeo, sebbene con intensità e gravità diverse, causando disagi a circa il 10 % della popolazione europea (Stein *et al.*, 2016). Per affrontare le future sfide legate all'uso dell'acqua, l'Unione Europea ha pubblicato, già all'inizio del millennio, la Direttiva Quadro Acqua (European Community, 2000) seguita da una serie di altre direttive volte a fornire strategie adeguate per affrontare la siccità e i rischi associati alla scarsità d'acqua (Stein *et al.*, 2016). In questo contesto è indispensabile comprendere i flussi idrici negli ecosistemi agrari che globalmente rappresentano il maggiore consumo di acqua (Hoekstra e Mekonnen, 2012).

I metodi a disposizione dei ricercatori per studiare il ciclo dell'acqua sono diversi. Questo lavoro di sintesi è focalizzato sulla tecnica basata sull'analisi degli isotopi stabili di idrogeno (H) e ossigeno (O) che compongono la molecola dell'acqua. Gli isotopi stabili consentono di seguire direttamente il destino dell'acqua seguendo i flussi idrici nel sistema pianta-suolo-atmosfera anche quando essi non sono direttamente misurabili. Gli isotopi di O e di H sono noti da quasi un secolo (Giauque and Johnston, 1929; Urey *et al.*, 1932) e il loro uso come traccianti ambientali può essere fatto risalire ai primi anni '50 del secolo scorso (Epstein and Mayeda, 1953). Sebbene lo strumento principe per l'analisi degli isotopi stabili, lo spettrometro di massa isotopica, sia in circolazione e quasi invariato da quasi settant'anni, solo negli ultimi 10-15 anni circa si è assistito allo sviluppo di una nuova tecnologia, la spettrometria a laser a infrarosso, che sta dando una nuova spinta all'uso degli isotopi stabili nell'analisi ambientale e nello studio del trasporto e delle origini dei flussi idrici nei sistemi agrari (Flenker, 2012; Lis *et al.*, 2008).

L'argomento può sembrare ostico a una prima lettura, ma speriamo di convincere il lettore dell'utilità di utilizzare gli isotopi stabili per studiare il ciclo dell'acqua non solo nei sistemi naturali, dove essa è già

stata ampiamente dimostrata, ma anche nei sistemi agrari, dove le potenzialità di questa tecnica sono ancora in gran parte da esplorare.

Isotopi stabili dell'acqua

Definizioni e unità di misura

Gli isotopi sono atomi di uno stesso elemento che posseggono un diverso numero di neutroni. Gli isotopi vengono definiti stabili quando il numero di protoni e neutroni non cambia nel tempo. Poiché i neutroni all'interno dell'atomo sono particelle elettricamente neutre, due isotopi dello stesso elemento mantengono la stessa carica ma hanno un diverso numero di massa (A). Il numero di massa è espresso dalla somma del numero di neutroni (N) e di protoni (Z, particelle cariche positivamente) ed è riportato come apice a sinistra del simbolo chimico.

La molecola di acqua è formata da due atomi di H ed uno di O. L'idrogeno ha due isotopi stabili designati con ^1H e ^2H e che contengono rispettivamente solo un protone oppure un protone ed un neutrone. Quest'ultimo isotopo stabile è noto anche come deuterio. L'ossigeno contiene 8 protoni e può avere 8 neutroni (^{16}O), 9 neutroni (^{17}O), o 10 neutroni (^{18}O). In una molecola di acqua si possono avere tutte le possibili combinazioni, anche se alcune (per esempio quelle che contengono ^{17}O) sono più rare di altre e di solito vengono trascurate negli studi che considerano gli isotopi. A causa della massa diversa, gli isotopi di un elemento hanno forze di legame diverse e di conseguenza possono avere comportamenti chimico-fisici diversi.

La composizione in isotopi stabili di elementi di bassa massa atomica quali l'O e l'H è riportata in termini di valori relativi ad uno standard di composizione isotopica nota. Questa notazione, il "delta per mille" (δ ‰) è calcolata secondo l'equazione 1:

$$\delta (\text{‰}) = \frac{(R_{\text{campione}} - R_{\text{standard}})}{R_{\text{standard}}} \times 1000 \quad (\text{Eq. 1})$$

dove R indica il rapporto tra l'isotopo più pesante e quello più leggero ($^2\text{H}/^1\text{H}$ o $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$). In pratica, il valore δ esprime di quante parti per mille il rapporto isotopico si discosta dallo stesso rapporto in uno standard di riferimento con composizione isotopica nota. Il motivo dell'utilizzo di tale notazione risiede nel fatto che la differenza tra due isotopi di un elemento è molto piccola (nell'acqua il rapporto $^2\text{H}/^1\text{H}$ è approssimativamente uguale a 0.00015576 e il rapporto $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ è approssimativamente 0.0020052) per cui utilizzare il rapporto R implicherebbe il maneggiare

numeri con molte cifre decimali e complicherebbe i calcoli. L'uso della notazione δ espande piccole differenze e le rende più facilmente visibili. Inoltre, l'uso di un rapporto di rapporti permette di confrontare elementi diversi che sarebbero molto più difficili da confrontare in valori assoluti. Infine, misurare direttamente il rapporto $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ in un campione permette di annullare il rumore di fondo e di ottenere una misura più accurata rispetto a misurare il numero assoluto di ^{18}O e di ^{16}O .

Un valore δ positivo indica che il rapporto isotopico del campione considerato è più alto di quello dello standard, cioè che il campione è arricchito nell'isotopo pesante rispetto allo standard. Viceversa, un valore δ negativo indica che il rapporto isotopico del campione considerato è più basso di quello dello standard, e quindi che il campione è impoverito nell'isotopo pesante rispetto allo standard. Diversi termini vengono comunemente usati per comparare i valori δ : arricchito/impoverito in isotopi pesanti; più positivo/più negativo; maggiore/minore; più "pesante"/più "leggero" (fig. 1).

Esistono diversi standard internazionali di riferimento per vari isotopi. Per quanto riguarda gli isotopi stabili degli atomi che compongono la molecola dell'acqua, ossigeno e idrogeno (^2H e ^{18}O), comunemente denominati "isotopi stabili dell'acqua", lo standard di riferimento è rappresentato dallo VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water), rimpiazzato nel 2006 dallo VSMOW2 che, per definizione, ha un valore di δ di 0‰. Questo standard è preparato dall'International Atomic Energy Agency (IAEA), con sede a Vienna, ed è distribuito in tutto il mondo per la calibrazione degli strumenti usati per la misura della composizione isotopica dell'acqua.

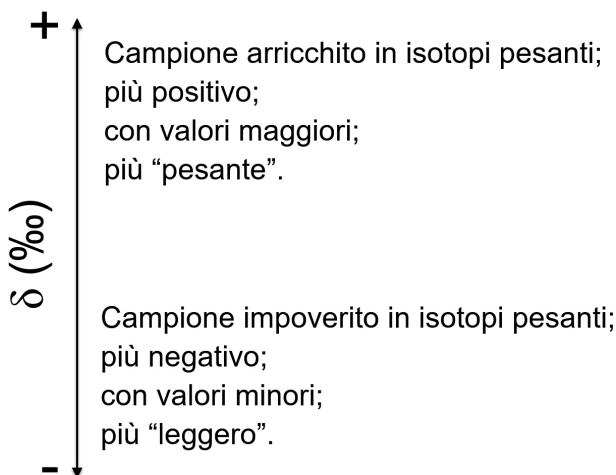


Fig. 1 - Terminologia comunemente utilizzata per comparare diversi valori di δ .

Fig. 1 - Terms commonly used to compare different values of δ .

Frazionamento isotopico

Il frazionamento isotopico comporta un cambiamento nelle proporzioni relative dei diversi isotopi, generando una composizione isotopica diversa rispetto a quella originale. Questo fenomeno è dovuto a differenze nella velocità di reazione degli isotopi leggeri e pesanti dello stesso elemento durante le reazioni termodinamiche (tipico è il caso dei cambiamenti di fase).

Nell'acqua, il frazionamento isotopico avviene principalmente durante i cambiamenti di fase (evaporazione, condensazione, fusione). In questi casi, la velocità di diffusione varia a seconda della forza dei legami chimici tra gli isotopi pesanti e leggeri. I legami molecolari tra gli isotopi leggeri vengono spezzati più facilmente di quelli tra isotopi pesanti. La forma isotopica pesante dell'acqua (cioè contenente ^2H e ^{18}O , ossia $^2\text{H}^{18}\text{O}$) richiede più energia per spezzare i legami chimici rispetto all'acqua che contiene isotopi più leggeri ($^1\text{H}^{16}\text{O}$), e di conseguenza la reazione avviene più lentamente. Per esempio, nel caso del cambiamento di stato da liquido a gassoso, le molecole di acqua che contengono ^{16}O evaporano più facilmente rispetto a quelle che contengono ^{18}O , a causa della differenza di massa tra i due isotopi e della facilità di rottura dei legami idrogeno che mantengono l'acqua in forma liquida. Inoltre, maggiore è la differenza di massa tra due isotopi, maggiore è il frazionamento isotopico. Quindi, nel caso dell'acqua, si ottiene un frazionamento maggiore nell'idrogeno in cui la massa di un isotopo è il doppio dell'altra ($^2\text{H}/^1\text{H}$), rispetto all'ossigeno in cui la massa di un isotopo è solo il 10 % in più rispetto all'altra ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$). Per informazioni più dettagliate sui meccanismi fisici che determinano il frazionamento isotopico si rimanda il lettore a Gat (1996).

Esistono due meccanismi principali che determinano il frazionamento isotopico: frazionamento all'equilibrio e frazionamento non all'equilibrio (frazionamento cinetico).

Frazionamento all'equilibrio

Il frazionamento all'equilibrio comporta la redistribuzione degli isotopi di un elemento tra vari composti, cosicché la velocità di reazione diretta e inversa di un certo isotopo è identica. Questo implica che il rapporto tra isotopi differenti in ogni composto o in ogni fase della reazione per una certa temperatura rimanga costante ma non implica necessariamente che la loro concentrazione sia uguale. Durante le reazioni all'equilibrio, l'isotopo più pesante si accumula nel composto col maggiore stato di ossidazione o nel

composto più “denso”. Un tipico esempio di processo all'equilibrio è rappresentato dalla condensazione del vapore acqueo. In tale processo, gli isotopi pesanti della molecola d'acqua (^{18}O and ^2H) si concentrano nella fase liquida (che così viene definita arricchita in isotopi pesanti, vedi fig. 1) mentre gli isotopi leggeri (^{16}O and ^1H) rimangono concentrati nella fase gassosa. In generale, il frazionamento è fortemente dipendente dalla temperatura: più alta è la temperatura, minore è la differenza tra la composizione isotopica di due specie all'equilibrio (Majoube, 1971). Questo meccanismo è tipico delle reazioni reversibili in sistemi chiusi in cui non vi è allontanamento del prodotto.

Frazionamento non all'equilibrio (cinetico)

Questo tipo di frazionamento è tipico di sistemi aperti, dove il prodotto viene continuamente allontanato dal sistema, o nelle reazioni irreversibili. In questi casi, non è possibile raggiungere l'equilibrio fra reagenti e prodotti. La velocità di reazione è dipendente dal rapporto delle masse isotopiche e dalle loro energie vibrazionali. Come nel caso del frazionamento all'equilibrio, i legami tra gli isotopi leggeri vengono spezzati più facilmente di quelli tra isotopi pesanti. Questo comporta un accumulo di isotopi pesanti nel reagente mentre nelle reazioni reversibili all'equilibrio i prodotti della reazione possono essere isotopicamente sia più leggeri che più pesanti dei reagenti originali. Un tipico esempio di frazionamento isotopico cinetico è rappresentato dal processo di evaporazione dell'acqua dalla superficie degli oceani, in cui il vapore acqueo prodotto dall'evaporazione viene continuamente rimosso dai processi di turbolenza dell'atmosfera cosicché la reazione non può mai raggiungere l'equilibrio. Il vapore prodotto dalla reazione di evaporazione risulta impoverito in isotopi pesanti con una deviazione del rapporto di frazionamento rispetto a quello che avverrebbe all'equilibrio. Tale deviazione è quantificata tramite un parametro definito eccesso di deuterio, ED (Dansgaard, 1964):

$$\text{ED} (\text{‰}) = \delta^2\text{H} - 8\delta^{18}\text{O} \quad (\text{Eq. 2})$$

Il grado di frazionamento cinetico durante il processo di evaporazione è influenzato soprattutto dall'umidità relativa al di sopra della superficie che evapora, e dalla temperatura dell'acqua e dell'aria.

Nel 1961, Craig ha pubblicato un famoso articolo in cui mostrava un grafico coi valori di $\delta^{18}\text{O}$ sull'asse delle ascisse e quelli di $\delta^2\text{H}$ sull'asse delle ordinate (fig. 2) (Craig, 1961). In questo grafico, i dati di circa 400 campioni di acque prelevate da precipitazioni, fiumi e laghi da diversi paesi del mondo risultavano

allinearsi lungo una linea retta rappresentata dall'equazione

$$\delta^2\text{H} (\text{‰}) = 8\delta^{18}\text{O} + 10 \quad (\text{Eq. 3})$$

che è definita come retta mondiale delle acque meteoriche (in inglese, *Global Meteoric Water Line*, GMWL). La pendenza di questa retta nelle acque di precipitazione, il cui valore è 8, varia in funzione della temperatura di condensazione a livello atmosferico. L'intercetta di questa retta corrisponde invece a ED e il suo valore, come specificato prima, è legato ai processi di frazionamento cinetico che avvengono durante l'evaporazione. Bassi valori di ED indicano l'avvenuto frazionamento cinetico che determina un cambiamento (diminuzione) della pendenza della relazione tra $\delta^{18}\text{O}$ e $\delta^2\text{H}$.

Poiché ED è influenzato dall'umidità e dalla temperatura del componente d'origine, rappresenta un parametro utile per inferire l'origine delle masse di vapore acqueo che formano le acque meteoriche in una determinata zona. Per studi a scala locale vengono spesso utilizzate rette locali delle acque meteoriche (*Local Meteoric Water Line*, LMWL) che possono presentare valori di pendenza diversa da 8 e valori di intercetta diversi da 10 ‰. Le rette locali per l'Italia settentrionale e meridionale sono riportate in Longinelli e Selmo (2003). Nel grafico in figura 2, le acque campionate in regioni fredde si dispongono in basso a sinistra perché sono impoverite in isotopi pesanti, mentre quelle campionate in regioni aride si posizionano in alto a destra perché arricchite in isotopi pesanti. Deviazioni dalla pendenza della GMWL, cioè diminuzione della pendenza della retta, indicano tipicamente il verificarsi di fenomeni evaporativi (fig. 2). Per esempio, in Europa sudoccidentale, dati di precipitazione caratterizzati da valori di ED vicini a quello della GMWL rivelano un'origine Atlantica mentre valori di ED più alti indicano l'influenza di masse d'aria provenienti dal bacino del Mediterraneo.

Utilità degli isotopi stabili dell'acqua in studi ecofisiologici ed ecoidrologici

Gli isotopi stabili di H e O, in quanto costituenti della molecola d'acqua, sono naturalmente presenti nel ciclo idrologico e sono pertanto ampiamente utilizzati come traccianti per stimare percorsi e velocità dei flussi di acqua nell'ambiente. Inoltre, gli isotopi stabili nell'acqua sono considerati traccianti conservativi, per cui le interazioni che l'acqua può subire durante i processi di precipitazione, infiltrazione nel suolo, percolazione nel sottosuolo, assorbimento tramite apparato

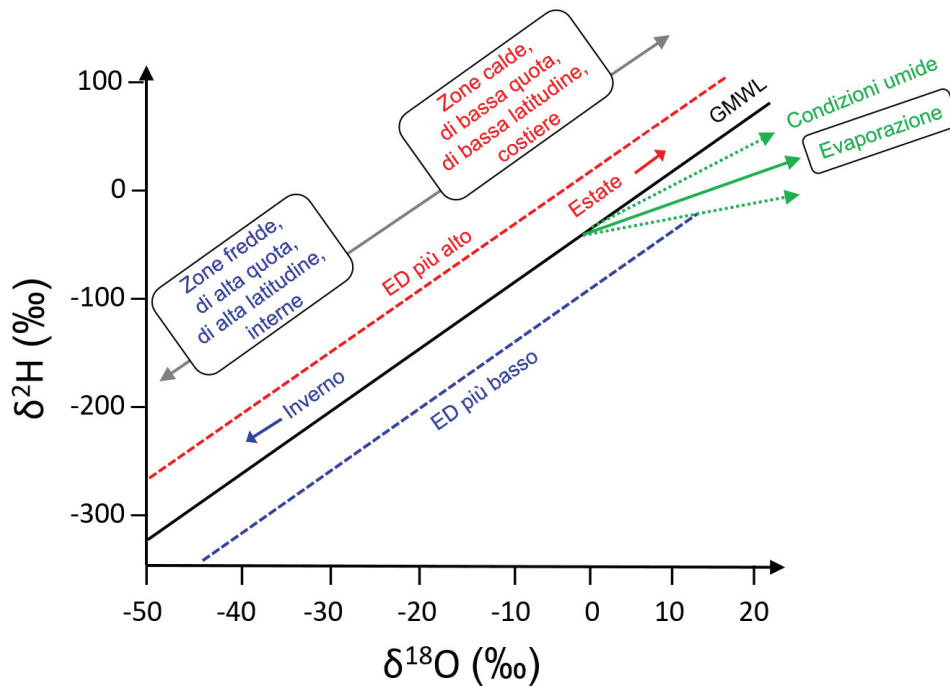


Fig. 2 - Rappresentazione schematica dei fattori che determinano la variabilità della composizione isotopica delle acque nello spazio $\delta^2\text{H}$ - $\delta^{18}\text{O}$. La linea nera rappresenta la retta mondiale delle acque meteoriche (GMWL). Valori di δ più negativi si osservano di norma nei mesi e nelle zone più fredde (alte quote e/o latitudini) e nelle zone continentali, mentre valori meno negativi o positivi si osservano nei mesi e nelle zone più calde (basse quote e/o latitudini) e nelle zone costiere. Condizioni di elevata umidità atmosferica spostano il valore di ED delle precipitazioni sotto la GMWL (linea tratteggiata blu) mentre condizioni di bassa umidità atmosferica lo spostano sopra la GMWL (linea tratteggiata rossa). I processi di evaporazione causano una deviazione dalla GMWL (linea verde), in misura maggiore o minore a seconda del tasso di evaporazione (linee verdi tratteggiate).

Fig. 2 – Schematic representation of factors determining the variability of the isotopic composition of water in the $\delta^2\text{H}$ - $\delta^{18}\text{O}$ space. The black line indicates the global meteoric water line (GMWL). More negative values of δ are observed in cold seasons and regions (high elevation and latitude), and inland, while less negative or positive values are observed in warm seasons and regions, and on the coast. High atmospheric humidity determines ED values lower than the GMWL (blue dashed line) while low atmospheric humidity determines ED values higher than the GMWL (red dashed line). Evaporation causes a deviation from the GMWL (green solid line), which is more or less emphasized according to the evaporation rate (green dashed lines).

radicale della vegetazione e trasporto nella pianta non ne modificano la struttura chimica. Pertanto, sono numerose le applicazioni in diverse discipline quali scienze dell'atmosfera, (paleo)climatologia, geochimica, oceanografia, idrologia, idrogeologia, ecoidrologia ed ecofisiologia. Recentemente, questa tecnica è stata applicata con successo anche in sistemi agrari (Mohammed *et al.*, 2016; Penna *et al.*, 2016). Per esempio, in idrologia e idrogeologia, gli isotopi stabili vengono impiegati per l'analisi dei movimenti dell'acqua a scala di versante e di bacino idrografico, dei processi di generazione di deflusso, per la quantificazione dell'origine dell'acqua che forma la risposta di piena in un corso d'acqua, per calcolare il tempo di residenza dell'acqua nel sottosuolo, per stimare la ricarica delle falde, il tasso di evaporazione di acqua dal suolo e la vulnerabilità degli acquiferi (McGuire e McDonnell, 2007). L'utilizzo di questa tecnica in studi di ecofisiologia ed ecoidrologia è stato introdotto all'inizio degli anni '90 con alcuni lavori pionieristici sul-

l'origine dell'acqua traspirata dalla vegetazione (Dawson e Ehleringer, 1991; Ehleringer e Dawson, 1992). Da allora, si è assistito ad un interesse crescente e ad un uso maggiore di questa tecnica per determinare la profondità e i comparti del suolo da cui l'apparato radicale di diverse specie vegetali assorbe l'acqua (Rothfuss e Javaux, 2017), sulla sua compartimentazione e sulla dinamica all'interno della pianta (Flanagan e Ehleringer, 1991) e per distinguere la componente acquosa traspirata da quella evaporata (Williams *et al.*, 2004). Negli ultimi anni, l'adozione degli isotopi stabili nell'acqua, talvolta usati in combinazione con gli isotopi stabili di altri elementi (soprattutto carbonio e azoto), si è sviluppata per analizzare l'interazione della vegetazione con l'atmosfera e la pedosfera, e il ruolo delle piante nell'ecosistema, nello specifico per esaminare i processi e l'efficienza dell'utilizzo idrico da parte delle piante, la variabilità spaziale e temporale dell'origine dell'acqua assorbita e traspirata dalle piante, i meccanismi di utilizzo di

acque di diversa origine, le strategie adattative ad ambienti aridi (Dawson *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2010). Sono diversi, infatti, i vantaggi offerti dagli isotopi stabili in studi ecofisiologici ed ecoidrologici: i) sussistono spesso marcate differenze nella composizione isotopica dei vari compartimenti idrici (suolo, falda, precipitazioni...) tali da semplificare l'identificazione delle principali origini idriche, inclusa l'acqua assorbita da diverse profondità del suolo; ii) la quantità di campione di acqua necessaria per l'analisi è limitata e spesso il campionamento di acqua xilematica è non distruttivo o poco invasivo; iii) non è necessario utilizzare marcatori tossici o radioattivi; iv) è possibile applicare semplici indici fisiologici per stimare l'efficienza dell'utilizzo idrico (Yang *et al.*, 2010).

Strumenti di misura

Gli isotopi stabili degli elementi leggeri, fra cui l'ossigeno e l'idrogeno, si misurano tradizionalmente con lo spettrometro di massa isotopica, IRMS (*Isotope-Ratio Mass Spectrometry*), sviluppato inizialmente negli anni '40 del secolo scorso. Concettualmente lo strumento è piuttosto semplice (fig. 3). Il campione viene prima ionizzato e poi fatto passare attraverso un campo magnetico molto potente che determina la separazione degli isotopi in base al loro rapporto massa/carica, m/z . Infine gli ioni separati raggiungono un rivelatore costituito da una o più coppe di Faraday. Tutto questo avviene in un flusso di elio puro sotto vuoto spinto (più di 10^{-6} mbar).

In un IRMS, il campione può essere analizzato solo se in forma gassosa. Un IRMS è quindi sempre dotato di un iniettore la cui funzione è di (1) iniettare il gas nella camera di ionizzazione; (2) regolare il flusso del campione in modo tale che il vuoto all'interno della camera di ionizzazione venga mantenuto; (3) iniettare il gas di riferimento in condizioni pressoché identiche a quelle del campione.

I due metodi più comuni di iniezione sono il *dual inlet* e il flusso continuo (*continuous flow*; CF-IRMS). Nel primo caso il campione viene preparato separatamente (*off-line*) e iniettato nell'IRMS attraverso un sistema di valvole e mantici. Questo sistema è estremamente preciso e permette di misurare quantità di gas molto piccole. Tuttavia, il metodo più comune usato oggi è il flusso continuo in cui una periferica per la preparazione del campione viene collegata direttamente all'IRMS. Nel caso dell'analisi dell'acqua questa periferica può essere un *gas-bench* o un pirolizzatore (*thermal conversion elemental analyzer*, TC-EA).

Il *gas-bench* viene utilizzato per campioni gassosi o liquidi conservati in provette di vetro con una capacità di 15 mL con tappi in silicone (fig. 4). I campioni

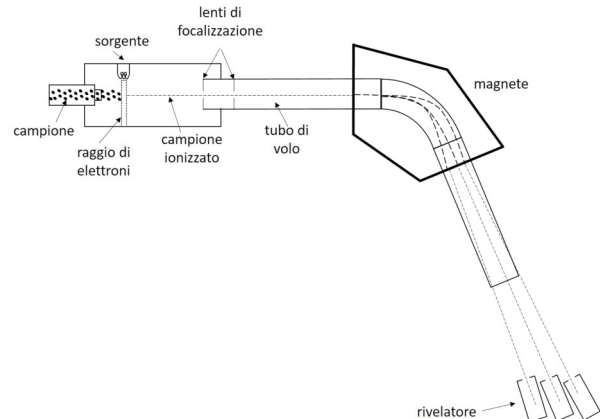


Fig. 3 - Schema di un IRMS

Fig. 3 - schematic representation of an isotopic mass spectrometer (IRMS).

già in forma gassosa vengono semplicemente prelevati mediante un ago e iniettati direttamente nell'IRMS. I campioni in forma acquosa vanno invece lasciati per 24 ore a temperatura costante in modo che si raggiunga uno stato di equilibrio isotopico fra l'acqua del campione e l'atmosfera dello spazio di testa. Un campione dello spazio di testa viene poi iniettato come descritto prima.

I campioni liquidi e quelli solidi vengono invece convertiti in forma gassosa mediante un pirolizzatore (TC/EA) (fig. 4), cioè una fornace ad alta temperatura ($1450\text{ }^{\circ}\text{C}$) in cui il campione viene bruciato in assenza di ossigeno. Il campione viene poi trasferito all'IRMS per l'analisi.

Spettrometria laser

Recentemente sono stati sviluppati strumenti per la misura degli isotopi nell'acqua in forma liquida o gassosa basati sulla spettrometria all'infrarosso (fig. 5). Il concetto è completamente diverso da un tradizionale IRMS. In questo caso, infatti, si sfrutta l'assorbimento nel vicino infrarosso (IR) che caratterizza quasi tutte le piccole molecole in fase gassosa, inclusa l'acqua. La precisa lunghezza d'onda del laser utilizzato determina il tipo di elemento, cioè ossigeno o idrogeno, che viene misurato. Ne esistono di diversi tipi (Iannone *et al.*, 2010; Wen *et al.*, 2013), ma sono tutti accomunati dal fatto che il cammino del laser viene esteso per diversi chilometri grazie alla presenza di specchi ultrapuri; la lunghezza del cammino ottico rende questi strumenti abbastanza precisi per misurare i diversi isotopi. La presenza delle molecole di campione diminuisce l'intensità della luce laser che viene misurata da un rivelatore posto alla fine del cammino ottico. Questa diminuzione è proporzionale alla concentrazione dei vari isotopi presenti nel campione.

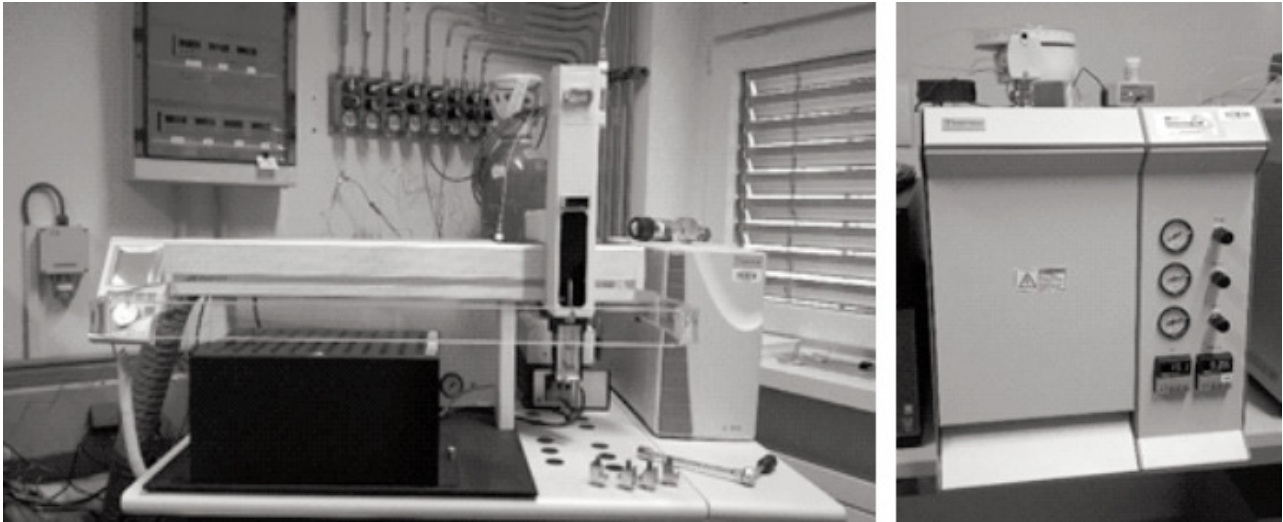


Fig. 4 - Gasbench e TC/EA in uso presso la facoltà di Scienze e Tecnologie della Libera Università di Bolzano-Bozen
Fig. 4 - Gasbench and TC/EA at the Faculty of Science and Technology of the Free University of Bozen-Bolzano.



Fig. 5 - Spettrometro laser in uso presso la facoltà di Scienze e Tecnologie della Libera Università di Bolzano-Bozen. Alla sua destra, l'apparato per l'estrazione criogenica di acqua. Il campione viene scaldato per far evaporare l'acqua dal campione che poi viene condensata in una trappola di azoto liquido (Koeniger *et al.*, 2011).

*Fig. 5 - Laser spectrometer at the Faculty of Science and Technology of the Free University of Bozen-Bolzano. The system for cryogenic distillation of water from solid samples such as soil and leaves is shown on the right (Koeniger *et al.*, 2011).*

Lo sviluppo di questi strumenti ha dato un nuovo impulso agli studi basati sugli isotopi. Essi sono infatti relativamente economici, almeno rispetto ad un IRMS tradizionale, e, soprattutto, sono trasportabili. Questo permette di installare lo strumento direttamente in campo ed effettuare misure in tempo reale e senza effettuare manipolazioni del campione che portano inevitabilmente a errori, per quanto piccoli, nella misurazione.

Variabilità della composizione isotopica dei comparti idrici e metodi di campionamento

Le precipitazioni

Le precipitazioni costituiscono spesso il principale apporto idrico nei sistemi agrari. Pertanto, essere in grado di seguirne il destino all'interno del sistema può contribuire a sviluppare tecniche più efficaci di gestione idrica. È però essenziale comprendere quali

processi determinano la variabilità spazio-temporale della composizione isotopica delle precipitazioni, che è estremamente ampia; per esempio Craig (1961) ha riportato valori di $\delta^{18}\text{O}$ da +10 a -40 ‰ e di $\delta^2\text{H}$ da +60 a -320 ‰. In Italia essa va da -4.91 ‰ a -11.38 ‰ per $\delta^{18}\text{O}$ e da -24.9 ‰ a -78.2 ‰ per $\delta^2\text{H}$ (Longelli e Selmo, 2003). Questo valore dipende da numerosi fattori tra i quali la composizione isotopica del vapore acqueo nelle masse d'aria che originano la precipitazione, il frazionamento associato all'evaporazione dell'acqua in tali masse, i processi di formazione delle precipitazioni. I due fattori primari sono i) la temperatura dell'aria (che controlla i fenomeni di frazionamento) e ii) la proporzione di vapore che rimane nella massa d'aria dopo l'inizio dell'evento di precipitazione. Quindi, i fattori ambientali che controllano la variabilità spatio-temporale della composizione isotopica della precipitazione sono le variazioni di temperatura legate i) alla variazione stagionale, ii) alla posizione geografica (zone costiere o interne), iii) alla quota, iv) alla latitudine e v) alla precipitazione cumulata durante un evento.

i) *Effetto stagionalità*. La variazione stagionale della temperatura comporta valori isotopici nella precipitazione più arricchiti in isotopi pesanti (meno negativi) durante l'estate e più impoveriti in isotopi pesanti (più negativi) durante l'inverno. L'effetto stagionale è più pronunciato per le zone continentali caratterizzate da marcate variazioni delle temperature.

ii) *Effetto continentalità*. Quando, a pressione costante, la temperatura delle masse d'aria che si sono formate sulla superficie oceanica è tale per cui l'aria diventa satura di vapore acqueo (punto di rugiada), si verifica la condensazione e la successiva precipitazione. La composizione isotopica di queste masse d'aria dipende principalmente dal frazionamento cinetico di cui si è detto. Quando si formano le precipitazioni, l'isotopo più pesante tende a condensare prima di quello più leggero (fig. 6). Per cui, a mano a mano che le masse d'aria si spostano dalla superficie oceanica e si muovono sopra i continenti e perdono acqua con le precipitazioni, la loro composizione isotopica tende a diventare più ricca di ^{16}O . Quindi, allontanandosi dalla costa, la precipitazione rimane più arricchita in isotopi pesanti rispetto al vapore acqueo rimanente, ma è in realtà impoverita rispetto alle precipitazioni avvenute in precedenza, sebbene originate dalla stessa massa d'aria. Il fenomeno è noto come distillazione di Rayleigh.

iii) *Effetto altitudine*. L'effetto orografico causato dal raffreddamento delle masse d'aria quando

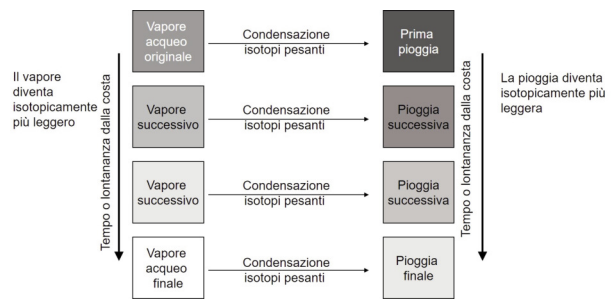


Fig. 6 - Schematizzazione della distillazione di Rayleigh che regola, insieme all'evaporazione secondo il modello di Craig e Gordon (1965), la composizione isotopica delle precipitazioni.

Fig. 6 - Schematics of Rayleigh distillation.

esse vengono sollevate incontrando un rilievo montuoso produce maggiori precipitazioni sul lato del rilievo a favore di vento. Questo favorisce il verificarsi del processo di distillazione di Rayleigh (fig. 7) e di conseguenza le quote più elevate ricevono precipitazioni impoverite in iso-

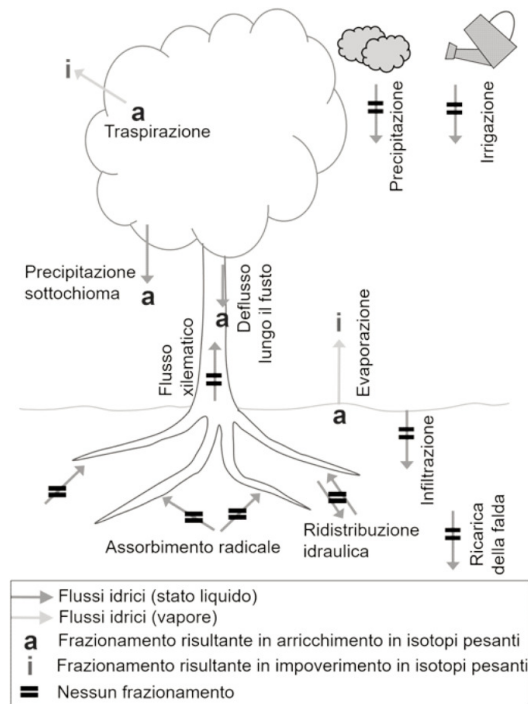


Fig. 7 - Concettualizzazione dei principali flussi idrici fra comparti idrici nel continuum suolo-pianta-atmosfera. La variazione della composizione isotopica dell'acqua è indicata dalla lettera "a" quando il processo di frazionamento comporta un arricchimento negli isotopi pesanti, dalla lettera "i" quando si osserva un impoverimento in isotopi pesanti, mentre il segno "=" rappresenta la mancanza di frazionamento e il mantenimento della composizione isotopica. In tabella 1 sono riportati alcuni valori tipicamente riscontrati nei diversi comparti idrici.

Fig. 7 - Conceptual model of the principal fluxes between water compartments in the soil-plant-atmosphere. Isotope enrichment is indicated by an "a" and depletion with an "i". The sign "=" indicates that no isotope fractionation occurs during the movement of water from one compartment to the next. Typical isotope values found in these compartments are shown in table 1.

Tab. 1 - Intervalli di valori tipici per i comparti idrici descritti nel testo e rappresentati in Fig. 6. I valori riportati sono indicativi vista la grande variabilità riportata in letteratura.

Tab. 1 - range of typical values found in the water compartments described in the following text and represented in Fig. 6. Values are indicative due to the high variability reported in literature.

	Range di valori tipici nei diversi comparti idrici		Riferimento bibliografico
	$\delta^{18}\text{O}$ ‰	$\delta^2\text{H}$ ‰	
Acqua dell'oceano da cui si originano le masse di vapore	0	0	Per definizione (è la VSMOW2, lo standard internazionale definito alla IAEA)
Precipitazione sottochioma	fra -4 e -14	fra -25 e -100	Allen <i>et al.</i> , 2014; Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Precipitazioni	fra -3.7 e -23.2	fra -25 e -174.1	Allen <i>et al.</i> , 2014; Brooks <i>et al.</i> , 2010; Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Irrigazione	Dipende da dove viene prelevata		
Falda	fra -13 e -15	fra -95 e -105	Penna <i>et al.</i> , 2016
Acqua del suolo campionata con lisimetri	fra -5.6 e -4.7	fra -30.2‰ e -26.1	Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Acqua del suolo estratta mediante distillazione criogenica	fra -6.0 e -12.3	fra -41.2 e -94.6	Brooks <i>et al.</i> , 2010; Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Acqua xilematica	fra -2 e -11	fra -40 e -85.7	Brooks <i>et al.</i> , 2010; Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Acqua nella foglia	fra +8.4 e +18.9	==	Kahmen <i>et al.</i> , 2008
Fiume/torrente	fra -6.8 e -10.7	fra -37 e -73.0	Brooks <i>et al.</i> , 2010; Hervé-Fernández <i>et al.</i> , 2016
Fiume Po	-9.8 ‰	-66.2 ‰	Marchina <i>et al.</i> , 2015

topi pesanti. Le alte quote sono inoltre caratterizzate da basse temperature che conducono a composizioni isotopiche delle precipitazioni ulteriormente impoverite.

iv) *Effetto latitudine*. Le masse d'aria incontrano temperature più basse spostandosi dalle regioni equatoriali verso le alte latitudini. La diminuzione della temperatura di condensazione è associata a valori isotopici più impoveriti nelle precipitazioni che avvengono alle alte latitudini.

v) *Effetto quantità*. Eventi di precipitazione di bassa cumulata sono tipicamente arricchiti in isotopi pesanti. Questo effetto è stato attribuito all'evaporazione delle gocce di pioggia durante la loro discesa che avviene più facilmente per eventi di pioggia di bassa cumulata ed intensità (Dansgaard, 1964). La condensazione delle forme isotopiche pesanti all'inizio di eventi di precipitazione maggiori fa sì che la pioggia successiva si arricchisca meno di isotopi pesanti rispetto a quella che avviene all'inizio dell'evento (Gedzelman e Arnold, 1994). Pertanto, durante eventi di durata maggiore si verifica un arricchimento totale minore a causa della ridotta evaporazione durante la parte finale dell'evento.

Una volta formatesi le gocce di pioggia, queste non subiscono più frazionamento, per cui il segnale

isotopico della precipitazione si ritrova inalterato nel momento in cui essa raggiunge lo strato di atmosfera occupato dalla vegetazione (fig. 7). Una parte dell'acqua di precipitazione, quantificata fra il 10 e il 50 % (Allen *et al.*, 2014), viene però intercettata e trattenuta all'interno della chioma. In tale occasione, a seconda del tempo di permanenza delle gocce su foglie e rami, e delle condizioni ambientali, si può verificare frazionamento cinetico, cosicché l'acqua che viene rilasciata come precipitazione sottochioma risulta isotopicamente arricchita (Hsueh *et al.*, 2016). In aggiunta a tale fenomeno, secondo una recentissima review (Allen *et al.*, 2017), si possono verificare fenomeni di i) scambio isotopico liquido-vapore, cioè di frazionamento all'equilibrio quando le fasi di vapore e di liquido non sono in condizioni di stato stazionario; ii) effetto selezione della chioma, quando la precipitazione sottochioma è trattenuta o rilasciata differentemente (nel tempo e nello spazio) dalla chioma nei diversi eventi di pioggia; iii) mescolamento di pioggia trattenuta dalla chioma con pioggia di eventi precedenti. La frazione di precipitazione che non viene intercettata può fluire lungo il fusto di specie arboree (deflusso lungo il fusto) subendo un certo frazionamento (che tipicamente porta ad un leggero arricchimento) o raggiungere direttamente il suolo senza subire frazionamento (fig. 6). A nostra conoscenza, l'influenza della

chioma della vegetazione agraria, e pertanto soprattutto dei frutteti, sulla composizione isotopica della precipitazione non è stata per ora studiata. In ambito forestale sono invece frequenti gli esperimenti riportati in letteratura tesi a valutare la composizione isotopica della precipitazione sottochioma.

In questa sezione trascuriamo di proposito la trattazione della precipitazione sotto forma di neve e dei conseguenti fenomeni di frazionamento che si verificano durante il processo di fusione del manto nevoso perché essi rappresentano tipicamente nei contesti agrari un apporto d'acqua meno rilevante rispetto alla pioggia e all'irrigazione. Informazioni sugli apporti al suolo di acqua derivante da fusione nivale e sulla sua composizione isotopica possono essere trovate in Sprenger et al. (2016) e bibliografia ivi riportata.

Il campionamento della precipitazione liquida al fine dell'analisi della composizione isotopica è piuttosto semplice, a patto che si adottino delle accortezze finalizzate alla prevenzione o minimizzazione del rischio di evaporazione, e pertanto di frazionamento isotopico. Per campionamenti di più eventi di pioggia cumulati, per esempio a scala temporale mensile o superiore, si possono utilizzare dei semplici raccoglitori in plastica o in metallo di dimensioni adeguate, muniti di un imbuto per convogliare la precipitazione. Sul fondo del contenitore può essere posto uno strato di olio minerale che rimanendo sulla superficie dell'acqua che viene raccolta forma uno strato impermeabile ed evita l'evaporazione. L'olio deve essere rimosso accuratamente per evitare che interferisca con l'analisi. Un'alternativa è rappresentata da raccoglitori cilindrici di metallo, dotati di imbuto, con un tubicino spiralato numerose volte e di minima sezione, che consente all'acqua di pioggia di entrare nel campionatore ma non al vapore di uscirne (Gröning et al., 2012). Il vantaggio di questo tipo di campionatori è rappresentato dal non dover utilizzare olio minerale. In caso invece di campionamenti ad evento, se la raccolta di acqua viene effettuata immediatamente dopo il termine della precipitazione non è necessario usare particolari attenzioni (almeno nei climi temperati e freddi). È stato però notato che durante lo stesso evento di pioggia, soprattutto in caso di temporali estivi, si possono avere variazioni molto marcate della composizione isotopica della precipitazione (McDonnell et al., 1990), che quindi vengono perse ed omogeneizzate prelevando un solo campione integrato alla fine dell'evento di precipitazione. Se vengono effettuati studi dettagliati che prevedono campionamenti di acque da diversi corpi idrici, incluso l'acqua xilematica, ad elevate risoluzioni temporali (per esempio, per l'analisi del trasporto dell'acqua dal suolo alla chioma nella

vegetazione agraria) è importante tenere in considerazione tale potenziale variabilità intra-evento della composizione isotopica tramite un campionamento sequenziale della pioggia (McDonnell et al., 1990).

L'irrigazione

Gli studi riguardanti la composizione isotopica dell'acqua di irrigazione, che ovviamente rappresenta un apporto idrico fondamentale per la vegetazione agraria, sono recenti e numericamente piuttosto scarsi. La composizione isotopica dell'acqua utilizzata a scopi irrigui può essere molto variabile a seconda del serbatoio idrico da cui essa viene prelevata. La composizione isotopica dell'irrigazione riflette essenzialmente quella della sua origine che può essere la falda o sorgenti (Oerter e Bowen, 2017; Penna et al., 2016), o canali, torrenti o fiumi (Yang et al., 2015). In generale, comunque, l'acqua di irrigazione è in grado di influenzare significativamente il segnale isotopico dell'acqua del suolo a diverse profondità (Ma e Song, 2016) e, di riflesso, quello dell'acqua assorbita dall'apparato radicale e trasportata alle foglie. Anche l'acqua di irrigazione non subisce ulteriore frazionamento isotopico da quando lascia l'impianto a quando giunge al suolo o alla chioma (fig. 7).

L'acqua di falda

Gli apporti idrici dalle falde acquifere alla zona insatura del suolo nei sistemi agrari sono generalmente più limitati rispetto all'acqua che raggiunge il suolo tramite le precipitazioni e l'irrigazione. L'accesso all'acqua di falda può aumentare sensibilmente l'utilizzo idrico della vegetazione e in alcuni casi può rappresentare una larga frazione (>50%) della traspirazione annuale (Benyon et al., 2006). Uno studio recente ha riportato che quasi il 40 % delle 414 specie di angiosperme e 38 specie di gimnosperme analizzate a scala globale mostrava un contributo di acqua di falda alla traspirazione fogliare (Evaristo and McDonnell, 2017). È ragionevole pensare che in alcuni ambienti, anche le piante coltivate possano avere accesso all'acqua della falda acquifera superficiale (circa nel primo metro dal piano campagna), specialmente nei casi di colture non irrigue e con radici profonde.

La risalita di acqua dalla falda acquifera alla zona vadosa tramite capillarità è un fenomeno che, soprattutto in caso di falda superficiale o poco profonda, può influenzare il bilancio dell'acqua nel suolo e costituire un apporto idrico significativo per alcune specie vegetali usate in agricoltura (Ramos et al., 2017). Però, a conoscenza degli autori, non esistono studi che abbiano caratterizzato isotopicamente l'ac-

qua di risalita capillare e valutato il suo ruolo nel modificare la composizione isotopica dell'acqua nella zona insatura.

L'acqua nel suolo

Come visto in precedenza, l'acqua che si trova nel suolo in un determinato momento può avere diverse origini e la sua composizione isotopica è l'effetto di numerosi fattori chimici e fisici che agiscono su di essa modificandola sia nel tempo che nello spazio. Per molti anni si è assunto che l'acqua nella matrice del suolo si mescolasse completamente e rapidamente cosicché, una volta penetrata nel suolo, non fosse più possibile distinguere, per esempio, l'acqua irrigua da quella di precipitazione (Hewlett e Hibbert, 1966). In realtà, già il lavoro di Dawson e Ehleringer (1991) aveva messo in evidenza una situazione più complessa e il lavoro di Brooks e colleghi del 2010 (Brooks *et al.*, 2010) ha definitivamente confutato l'assunto del completo mescolamento ed ha aperto la via a un gran numero di ricerche e ad una accesa discussione fra i ricercatori. Utilizzando gli isotopi, Brooks e colleghi (2010) hanno ipotizzato che l'acqua nel suolo si suddivida in due *pool* che non si mischiano: un'acqua più fortemente legata alle particelle del suolo e che viene assorbita dalle radici degli alberi, e un'acqua più mobile che, infiltrandosi negli strati più profondi del suolo, contribuisce alla ricarica della falda e al sostentamento delle acque superficiali. Questa ipotesi, denominata *dei due mondi d'acqua* (McDonnell, 2014) è oggi fortemente discussa.

Per capire la distribuzione isotopica dell'acqua nel suolo bisogna considerare che essa è ivi soggetta a molte forze diverse, a livello chimico e fisico. L'acqua di pioggia e di irrigazione possono cominciare a cambiare composizione isotopica nel momento in cui toccano il suolo. Il primo importante meccanismo a causare questo cambiamento è l'evaporazione, pertanto la composizione isotopica può cambiare per frazionamento cinetico (fig. 7). L'acqua che non evapora immediatamente si sposta lungo il profilo del suolo dove interagisce con l'acqua già presente e con i sali in essa contenuti, con le particelle di suolo e con le radici.

Fra le forze che agiscono sull'acqua, quella di gravità è forse la più evidente, è ineluttabile e il suo effetto dipende dall'altezza dell'acqua rispetto ad un punto di riferimento arbitrario, ma è indipendente dalle caratteristiche del suolo. Poiché la forza attrattiva del nostro pianeta è proporzionale alla massa, è ragionevole pensare che essa possa avere un effetto di frazionamento diverso sugli isotopi che, per definizione, hanno diversa massa. Tuttavia, l'effetto della gra-

vità è probabilmente troppo piccolo per avere un'influenza sulla composizione isotopica nel breve periodo per cui essa può venire considerata assente (Barnes e Allison, 1988) e la diminuzione di composizione isotopica che si vede con la profondità (Oerter e Bowen, 2017) è probabilmente legato ad altri fattori. Per esempio, bisogna considerare che generalmente la temperatura cambia con la profondità e anche questo può influire sul frazionamento isotopico, come evidenziato precedentemente.

La forza con cui l'acqua interagisce con la superficie delle particelle del suolo è la somma di forze capillari e di forze di adesione. Questa forza è quella che ha la maggiore influenza sul movimento di acqua nel profilo del suolo non saturo e dipende fortemente dal tipo di suolo; per esempio, nei suoli sabbiosi l'acqua interagisce poco con la superficie disponibile perché le particelle sono di grandi dimensioni. Questa forza è probabilmente quella che maggiormente influenza la composizione isotopica del suolo e che è stata invocata per spiegare i risultati di Brooks *et al.* (2010). In un ambiente non irrigato, durante i periodi di siccità il suolo si svuota quasi completamente di acqua. Con le piogge autunnali, il suolo assorbe acqua che viene persa prima per gravità, poi per evaporazione e assorbimento da parte delle radici. L'acqua gravitazionale sembra essere più arricchita di isotopi pesanti rispetto all'acqua capillare (Brooks *et al.*, 2010). I micro- e mesopori drenano, cioè si svuotano, più lentamente dei macropori per cui le piogge successive non li riempiono, e contengono probabilmente acqua più vecchia e, verosimilmente, isotopicamente più leggera. La presenza di sali nel suolo non influenza particolarmente il flusso di acqua perché laddove non ci sono impedimenti al movimento dei soluti, la loro concentrazione diventerà nel tempo la stessa in tutto il profilo del suolo per il processo di diffusione. Tuttavia, questa forza diventa rilevante per determinare il flusso d'acqua quando ci si riferisce all'assorbimento radicale. La presenza di sali solubili nel suolo, infatti, rende più difficile l'estrazione dell'acqua da parte della pianta e questo potrebbe facilmente creare le condizioni per avere frazionamento isotopico. Inoltre, la presenza di sali nell'acqua rallenta l'evaporazione rispetto all'acqua pura (El-Dessouky *et al.*, 2002) e la soluzione rimanente è meno arricchita in isotopi pesanti rispetto all'acqua pura. Infine, l'effetto di suzione effettuato dall'atmosfera, che si trasmette al suolo attraverso lo xilema e determina il trasferimento verticale dell'acqua, potrebbe influenzare la composizione isotopica dell'acqua rimasta nel suolo a causa di una più rapida movimentazione degli isotopi più leggeri lasciando nel suolo gli isotopi più pesanti.

In aggiunta alle interazioni fisiche fra l'acqua e il suolo, per comprendere appieno la sua composizione isotopica bisognerebbe anche considerare l'effetto dell'attività biologica e il ruolo della sostanza organica. Per esempio, è stato dimostrato che il carbonio e l'azoto microbico sono costantemente arricchiti rispetto alla sostanza organica (Dijkstra *et al.*, 2006). Questo potrebbe accadere anche per l'acqua sebbene sia più probabile che i microrganismi preferiscano assorbire acqua isotopicamente leggera e quindi lasciare il suolo arricchito in ^2H e ^{18}O . Un altro meccanismo biologico che potrebbe avere un effetto sulla composizione isotopica riguarda l'equilibrio di ossigeno e idrogeno dell'acqua con gli analoghi elementi presenti nei sali che si trovano nel suolo o nella biomassa. Per esempio, è stato dimostrato che lo scambio di ossigeno fra acqua e fosfato lascia il fosfato arricchito di ^{18}O (Blake *et al.*, 1997). Un altro possibile scambio di ossigeno avviene con gli ossidi di azoto durante i processi di nitrificazione e denitrificazione. L'attività stessa delle radici può modificare la composizione isotopica dell'acqua nel suolo: per esempio l'assorbimento di alcuni nutrienti (per esempio lo ione ammonio, NH_4^+), determina il rilascio di ioni H^+ o OH^- e l'attività di dissoluzione dei silicati produce O^{2-} . Infine, la sostanza organica ha un ruolo importante nel trattenere l'acqua del suolo. Inoltre, la sua decomposizione libera sia ossigeno che idrogeno che possono poi sostituirsi nelle molecole di acqua libera (Paul *et al.*, 2016).

Il campionamento di acqua del suolo per le analisi isotopiche è argomento di intenso dibattito nella comunità scientifica. Per esempio, a settembre 2017 l'argomento è stato oggetto di approfondite discussioni nell'ambito del workshop internazionale *Isotope-based studies of water partitioning and plant-soil interactions in forested and agricultural environments* organizzato dai due autori del presente lavoro e da una collega dell'Università di Bayreuth (Germania).

Il metodo "aureo" fino a poco tempo fa era considerato la distillazione. Inizialmente si sottoponevano i campioni a distillazione azeotropica. Il metodo è stato tuttavia sostituito dalla distillazione criogenica (fig. 5), molto più sicura perché non basata sull'uso di sostanze tossiche, nonché più rapida. Recentemente, tuttavia, l'affidabilità della distillazione criogenica è stata messa in discussione (Newberry *et al.*, 2017). Un altro metodo molto utilizzato è quello dei lisimetri a suzione che si assume siano in grado di simulare l'assorbimento radicale. Questo assunto però è stato recentemente messo in discussione in quanto la pressione di suzione esercitata dai lisimetri non è paragonabile a quella esercitabile dalle piante. Un metodo già utilizzato in passato, ma che sta diventando più

popolare oggi grazie allo sviluppo della spettrometria laser per l'analisi degli isotopi, è l'equilibratura diretta dell'acqua contenuta nel campione con la CO_2 o l' H_2 dello spazio di testa nel contenitore, analogamente a come succede nel *gas-bench* (Wassenaar *et al.*, 2008). Un'alternativa è quella di utilizzare le microonde per evaporare l'acqua dal suolo (Munksgaard *et al.*, 2014). Il vantaggio di queste tecniche accoppiate allo spettrometro laser è che il vapore può essere trasferito immediatamente e contestualmente alla sua formazione allo strumento per l'analisi. Questo minimizza i rischi di frazionamento isotopico dovuti al metodo di campionamento.

Diversi studi hanno cercato di confrontare tecniche diverse per campionare l'acqua del suolo per studiarne la composizione isotopica. Per esempio, Figueroa-Johnson *et al.* (2007) hanno confrontato lisimetri a suzione, centrifugazione e distillazione azeotropica; Thoma *et al.* (accettato per la pubblicazione) hanno confrontato lisimetri a suzione e distillazione criogenica; Orłowski *et al.* (2016) hanno confrontato pressione meccanica, centrifugazione, equilibratura, estrazione con microonde ed estrazione criogenica. Emerge chiaramente da questi studi il fatto che difficilmente i risultati sono confrontabili anche se in alcuni casi è possibile riconoscere degli andamenti ripetibili. Per esempio, l'acqua estratta con la distillazione criogenica è sempre isotopicamente più leggera dell'acqua estratta dai lisimetri a suzione. Questi risultati hanno portato a ipotizzare che ognuno di questi metodi in realtà è in grado di campionare acqua che si trova nel suolo in *pool* diversi probabilmente perché trattenuta da diversi potenziali idrici.

La scelta del metodo è quindi particolarmente critica quando si lavora con gli isotopi dell'acqua nel suolo. Purtroppo, nonostante gli sforzi della comunità scientifica e il progresso della tecnologia di analisi, non si è giunti ancora ad un consenso riguardo al metodo di campionamento. A questo riguardo, quindi, ulteriori ricerche sono necessarie per capire (1) che tipo di acqua viene campionata con ciascun metodo; (2) quali sono i punti a maggior rischio di frazionamento isotopico di ciascun metodo; (3) se esista un metodo che possa essere assunto come "metodo standard" e per il quale si possa sviluppare un protocollo comune.

L'acqua nella vegetazione

Più del 50% dell'acqua rilasciata in atmosfera dagli ecosistemi a livello globale passa attraverso l'assorbimento radicale e la traspirazione fogliare (Jasechko *et al.*, 2013). In effetti, ai fini di una migliore comprensione dei flussi di acqua negli ecosistemi,

è utile considerare la pianta come un tramite fra atmosfera e suolo. Questo sistema viene spesso definito “continuum suolo-pianta-atmosfera” per evidenziare la stretta connessione tra questi tre comparti. La pianta funge da tramite fra suolo e atmosfera, ma non ha un ruolo passivo, anzi, è la pianta per prima, attraverso la regolazione degli stomi, che controlla il flusso di acqua da un comparto all'altro.

La maggior parte degli studi che hanno analizzato la composizione isotopica della pianta si sono basati sull'assunto che l'assorbimento di acqua nella radice non determini frazionamento isotopico (fig. 7) (Dawson *et al.*, 2002). Questo assunto è stato recentemente messo in discussione (Vargas *et al.*, 2017) perché si basa quasi esclusivamente su studi effettuati in condizioni di saturazione idrica, condizione che raramente si ritrova in campo. Questi nuovi dati hanno messo in discussione l'ipotesi dei due mondi d'acqua (Brooks *et al.*, 2010; McDonnell, 2014) che si basa proprio sul fatto che la composizione dell'acqua xilematica coincide con l'acqua più strettamente adesa alle particelle di suolo.

Qualunque sia l'effetto isotopico dell'assorbimento dell'acqua da parte delle radici, è chiaro che la composizione isotopica dell'acqua xilematica deve in qualche modo essere confrontabile con quella della sorgente. Numerosi studi sono stati pubblicati sull'argomento, i quali hanno permesso effettivamente di avere una base per determinare quali fossero i *pool* di acqua maggiormente usati dalle piante. Famoso, per esempio, lo studio di Dawson e Ehleringer (1991) nel quale i dati isotopici del solo idrogeno sono serviti per suggerire che alberi che crescevano molto vicino ad un corso d'acqua in realtà non usavano affatto quell'acqua, ma la assorbivano dagli strati più profondi del suolo. Gli autori suggeriscono che questa strategia potrebbe essere stata sviluppata dagli alberi per avere, da un lato, una fonte di acqua più costante nel corso dell'anno rispetto a quella superficiale, scarseggiante durante la stagione estiva, e dall'altro per limitare il problema della competizione con piante con un sistema radicale più superficiale (Dawson e Ehleringer, 1991).

L'assorbimento di acqua da parte del sistema radicale dipende principalmente dal flusso di traspirazione a livello fogliare (Rothfuss e Javaux, 2017) e la sua intensità dipende dalla differenza di potenziale idrico fra l'atmosfera e il suolo e dall'apertura degli stomi. Il flusso dell'acqua dipende anche dalla distribuzione delle radici nel suolo, dalla loro capacità di assorbire acqua e, ovviamente, dalla disponibilità di acqua nel suolo (Rothfuss e Javaux, 2017). Quindi, comprendere come la distribuzione di acqua nel suolo e l'archi-

tettura delle radici influenzino l'assorbimento di acqua è importante per adeguare la strategia irrigua, sviluppare nuovi genotipi di piante più tolleranti alla siccità e affrontare problemi ecologici in ecosistemi in cui l'acqua è un fattore limitante, come per esempio la competizione fra specie diverse (Javaux *et al.*, 2013).

Due aspetti della fisiologia radicale sono particolarmente interessanti per comprendere il flusso dell'acqua nel continuum suolo-pianta. Si tratta della compensazione radicale e della ridistribuzione idraulica. Per entrambi i processi, gli isotopi si sono rivelati un fondamentale strumento di studio. La compensazione radicale avviene quando la pianta diminuisce o aumenta selettivamente l'assorbimento radicale in una zona specifica di suolo al variare del contenuto idrico. Si tratta cioè di un meccanismo di adattamento interno per compensare la variazione spaziale del potenziale idrico del suolo (Couvreux *et al.*, 2012). Quando non c'è compensazione radicale, l'assorbimento di acqua da parte delle radici segue la distribuzione delle radici stesse, cioè è maggiore negli strati superficiali del suolo e minore in quelli più profondi. Questo significa che le piante non in grado di mettere in atto questo meccanismo di difesa sono più vulnerabili nei periodi siccitosi. La ridistribuzione idraulica invece consiste nel trasferimento notturno di acqua assorbita dagli strati più profondi del suolo a quelli più superficiali tramite radici profonde (Dawson, 1996). È stato dimostrato che questo meccanismo ha una importanza non trascurabile nel flusso di acqua in climi caldi e aridi e potrebbe diventare rilevante anche in ambienti temperati. Una approfondita conoscenza della distribuzione di questi due meccanismi fra le specie di interesse agrario sarebbe auspicabile in quanto molto utile per orientare meglio la strategia di applicazione dell'irrigazione differenziata per specie. Al momento gli studi sono piuttosto scarsi e riferiti prevalentemente a piante erbacee (Soylu *et al.*, 2017; Vandoorne *et al.*, 2012), ma diversi studi li hanno incorporati con discreto successo in modelli per la simulazione dell'assorbimento radicale di acqua (Camargo and Kemanian, 2016; Zhu *et al.*, 2017).

Dopo l'avvenuto assorbimento di acqua tramite l'apparato radicale, non è ben chiaro come si distribuiscano gli isotopi nei vasi xilematici. Nel movimento mediante lo xilema dalle radici alla chioma è improbabile che avvenga frazionamento. Tuttavia parte dell'acqua assorbita dalle radici rimane all'interno della pianta nelle cellule e viene distribuita, trasferendosi da cellula a cellula, a tutta la pianta. Quest'acqua contribuisce a innumerevoli reazioni

biochimiche e può essere soggetta ad equilibrare ossigeno e idrogeno con le molecole organiche costituenti la biomassa vegetale. Questo flusso idrico, per il momento ancora molto poco studiato, chiaramente contiene alte potenzialità di frazionamento isotopico che però sono ancora pressoché sconosciute tanto quanto il loro effetto sulla composizione isotopica globale del flusso di acqua attraverso la pianta.

L'acqua dalla biomassa vegetale viene prevalentemente campionata mediante distillazione criogenica (Orlowski *et al.*, 2013). Altri metodi come, per esempio, l'uso della pressione per "spremere" la linfa o la suzione tramite siringa si sono in generale rivelati poco efficaci perché inclini a modificare la composizione isotopica del campione e perché estraggono quantità molto piccole di campione, spesso insufficienti per l'analisi, e ricche di sostanze disciolte, specialmente zuccheri, che rendono i risultati analitici relativamente poco affidabili.

Fra tutti i processi citati finora, la traspirazione è probabilmente quello che maggiormente influenza la composizione isotopica del flusso di acqua nel continuum suolo-pianta-atmosfera. Essendo un processo principalmente evaporativo, e quindi soggetto a frazionamento cinetico, la traspirazione tende a lasciare il materiale vegetale arricchito di isotopi pesanti (fig. 6). L'entità di questo arricchimento dipende da molti fattori fra cui la velocità di traspirazione e il tipo di apparato fotosintetico.

Risulta pertanto essenziale, in studi che mirano a comprendere l'origine dell'acqua utilizzata dalle piante, che il campionamento di acqua assorbita dalle radici non avvenga a livello fogliare, dove il frazionamento comporta un cambiamento della composizione isotopica dell'acqua assorbita, ma debba essere effettuato a livello di fusto (per esempio, tramite estrazione di carote dallo xilema) o di chioma (per esempio, estrazione per distillazione criogenica dai rami terminali).

Anche l'equilibratura che avviene a livello fogliare fra l'acqua che arriva dalle radici e l'ossigeno e l'idrogeno che entrano nella foglia tramite gli stomi sotto forma di vapore acqueo e anidride carbonica svolgono un certo effetto sulla composizione isotopica dell'acqua traspirata. Verosimilmente questo processo influisce poco sulla firma isotopica del vapore acqueo traspirato ad alti regimi di traspirazione, mentre potrebbe avere un ruolo relativamente importante quando la traspirazione è bassa. Tuttavia, gli studi sull'argomento sono molto pochi e non si ha ancora una conoscenza sufficiente di questi processi per poter fornire un'interpretazione più accurata.

A causa di questo forte effetto di frazionamento della traspirazione, l'analisi isotopica per distinguere

il vapore acqueo derivato dalla traspirazione da quello derivato dall'evaporazione è una tecnica particolarmente diffusa (Williams *et al.*, 2004). Un punto critico di questo processo è il campionamento. Infatti, il campionamento dell'aria va sempre eseguito in maniera tale da assicurarsi che questo sia rappresentativo del sistema che si vuole studiare e che sia minimizzata l'influenza della vegetazione circostante. Negli ultimi anni, lo sviluppo della spettrometria laser ha permesso di effettuare studi molto più dettagliati anche in campo. Infatti questo sistema permette l'analisi della firma isotopica in continuo con il campionamento dell'aria attraverso tubi connessi direttamente allo strumento. In questo modo è possibile, fra l'altro, accoppiare l'analisi isotopica con le misure effettuate con la tecnica dell'*eddy covariance* ottenendo in questo modo dati estremamente precisi ed informativi sui processi ecofisiologici legati al flusso di acqua da e verso l'ecosistema (Griffis *et al.*, 2010).

Conclusioni

Gli isotopi stabili dell'idrogeno e dell'ossigeno rappresentano uno strumento potente ed affidabile per studiare il trasporto di flussi idrici nel continuum suolo-vegetazione-atmosfera. L'uso degli isotopi stabili nella ricerca ecologica ha ormai mezzo secolo di esperienza, tuttavia in campo agrario le ricerche sono ancora piuttosto scarse. Eppure, anche nei sistemi agrari questa tecnica è estremamente versatile e può fornire un supporto importante ai dati ottenuti tramite altri metodi di indagine, oltre che fornire dati altrimenti difficilmente acquisibili. L'analisi isotopica, infatti, può essere effettuata anche quando non è possibile misurare direttamente i flussi di acqua nel, dal e attraverso il sistema. Per esempio, comprendere come la distribuzione di acqua nel suolo e l'architettura delle radici influenzano l'assorbimento radicale di acqua è importante per pianificare strategie irrigue per ogni specie al fine di aumentare l'efficienza d'uso dell'acqua e ridurre l'impronta idrica, sviluppare nuovi genotipi di piante più tolleranti alla siccità e affrontare problemi ecologici in ecosistemi in cui l'acqua è un fattore limitante, come per esempio la competizione fra specie diverse. Inoltre, l'applicazione dell'analisi isotopica permetterebbe di aumentare le conoscenze sulla fisiologia degli assorbimenti idrici da parte degli apparati radicali delle diverse specie. Ciò permetterebbe di sviluppare tecniche di gestione sempre più puntuali e precise, aspetto fondamentale per il futuro dell'agricoltura in vista dei cambiamenti climatici previsti e delle problematiche che già ci troviamo ad affrontare. Alcuni punti critici esistono e vanno valu-

tati con attenzione quando si vuole applicare questa tecnica. In particolare, la scelta del metodo di campionamento dell'acqua nel suolo e dell'acqua xilematica deve essere effettuata con particolare cura, consci dei limiti e delle potenzialità di ciascun metodo.

Per ragioni di spazio, in questo lavoro abbiamo potuto presentare solo alcuni concetti di base relativi alla variabilità della composizione isotopica nei principali flussi idrici che caratterizzano il continuum suolo-vegetazione-atmosfera. Molte altre pagine sarebbero necessarie per discutere aspetti più specifici che abbiamo dovuto tralasciare. Tuttavia, speriamo di avere stimolato l'interesse del lettore ad approfondire questo interessante argomento e di avere trasmesso il concetto che gli isotopi stabili possono rappresentare un potente strumento per studiare il ciclo dell'acqua nei sistemi agrari.

Riassunto

La conoscenza dei meccanismi responsabili del trasporto idrico negli ecosistemi è essenziale al fine di pianificare strategie sostenibili di gestione delle risorse idriche nell'attuale contesto di cambiamenti climatici. Gli isotopi stabili dell'idrogeno e dell'ossigeno rappresentano uno strumento molto utile per seguire i flussi idrici nel continuum suolo-pianta-bassa atmosfera. Questo lavoro si prefigge di descrivere l'utilizzo degli isotopi stabili dell'idrogeno e dell'ossigeno per lo studio degli scambi idrici tra suolo, vegetazione e bassa atmosfera con particolare attenzione agli studi condotti in ecosistemi agrari arborei, sebbene l'applicazione di questa tecnica in campo della ricerca agraria sia ancora piuttosto scarsa se confrontata ad altri ambiti. Nel lavoro vengono presentati concetti di base sulla distribuzione degli isotopi nel ciclo idrologico, sui metodi di misura degli isotopi nell'acqua e sulle potenzialità della tecnica isotopica, menzionando le principali linee di ricerca su di essa basate per lo studio dei processi ecofisiologici ed ecoidrologici associati al trasferimento di flussi idrici in contesti agrari.

Parole chiave: flussi idrici, idrogeno-2, ossigeno-18, ricerca agraria, uso dell'acqua, vegetazione.

Bibliografia

ALLEN, S.T., BROOKS, J.R., KEIM, R.F., BOND, B.J., McDONNELL, J.J., 2014. *The role of pre-event canopy storage in throughfall and stemflow by using isotopic tracers*. *Ecohydrology* 7: 858-868. doi:10.1002/eco.1408

ALLEN, S.T., KEIM, R.F., BARNARD, H.R., McDONNELL, J.J., RENÉE BROOKS, J., 2017. *The role of stable isotopes in understanding rainfall interception processes: a review: Interception isotopic effects*. *Wiley Interdiscip. Rev. Water* 4:

e1187. doi:10.1002/wat2.1187

BARNES, C.J., ALLISON, G.B., 1988. *Tracing of water movement in the unsaturated zone using stable isotopes of hydrogen and oxygen*. *J. Hydrol.* 100: 143-176. doi:10.1016/0022-1694(88)90184-9

BENYON, R.G., THEIVEYANATHAN, S., DOODY, T.M., 2006. *Impacts of tree plantations on groundwater in south-eastern Australia*. *Aust. J. Bot.* 54: 181. doi:10.1071/BT05046

BLAKE, R.E., O'NEIL, J.R., GARCIA, G.A., 1997. *Oxygen isotope systematics of biologically mediated reactions of phosphate: I. Microbial degradation of organophosphorus compounds*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 61: 4411-4422.

BROOKS, R.J., BARNARD, H.R., COULOMBE, R., McDONNELL, J.J., 2010. *Ecophysiological separation of water between trees and streams in a Mediterranean climate*. *Nat. Geosci.* 3: 100-104. doi:10.1038/ngeo722

CAMARGO, G.G.T., KEMANIAN, A.R., 2016. *Six crop models differ in their simulation of water uptake*. *Agric. For. Meteorol.* 220: 116-129. doi:10.1016/j.agrformet.2016.01.013

COUVREUR, V., VANDERBORGHT, J., JAVAUX, M., 2012. *A simple three-dimensional macroscopic root water uptake model based on the hydraulic architecture approach*. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 16: 2957-2971. doi:10.5194/hess-16-2957-2012

CRAIG, H., 1961. *Isotopic Variations in Meteoric Waters*. *Science* 133: 1702-1703. doi:10.1126/science.133.3465.1702

CRAIG, H., GORDON, L.I., 1965. *Deuterium and oxygen 18 variations in the ocean and marine atmosphere*, in: *Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures*. Spoleto: 9-130.

DANSGAARD, W., 1964. *Stable isotopes in precipitation*. *Tellus* 16: 436-468. doi:10.1111/j.2153-3490.1964.tb00181.x

DAWSON, T.E., 1996. *Determining water use by trees and forests from isotopic, energy balance and transpiration analyses: the roles of tree size and hydraulic lift*. *Tree Physiol.* 16: 263-272.

DAWSON, T.E., EHLERINGER, J.R., 1991. *Streamside trees that do not use stream water*. *Nature* 350: 335-337. doi:10.1038/350335a0

DAWSON, T.E., MAMBELLI, S., PLAMBOECK, A.H., TEMPLER, P.H., TU, K.P., 2002. *Stable isotopes in plant ecology*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33: 507-559. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451

DIJKSTRA, P., ISHIZU, A., DOUCETT, R., HART, S.C., SCHWARTZ, E., MENYAILO, O.V., HUNGATE, B.A., 2006. *¹³C and ¹⁵N natural abundance of the soil microbial biomass*. *Soil Biol. Biochem.* 38: 3257-3266. doi:10.1016/j.soilbio.2006.04.005

EHLERINGER J.R., DAWSON T.E., 1992. *Water uptake by plants: perspectives from stable isotope composition*. *Plant Cell Environ.* 15: 1073-1082. doi:10.1111/j.1365-3040.1992.tb01657.x

EL-DESSOUKY, H.T., ETOUNEY, H.M., ALATIQUI, I.M., AL-SHAMARI, M.A., 2002. *Evaporation Rates from Fresh and Saline Water in Moving Air*. *Ind. Eng. Chem. Res.* 41: 642-650. doi:10.1021/ie010327o

EPSTEIN, S., MAYEDA, T., 1953. *Variation of O18 content of waters from natural sources*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 4: 213-224. doi:10.1016/0016-7037(53)90051-9

EUROPEAN COMMUNITY, 2000. *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy: 2000/60/EC*.

EVARISTO, J., McDONNELL, J.J., 2017. *Prevalence and magnitude of groundwater use by vegetation: a global stable isotope meta-analysis*. *Sci. Rep.* 7: 44110. doi:10.1038/srep44110

FIGUEROA-JOHNSON, M.A., TINDALL, J.A., FRIEDEL, M., 2007. *A Comparison of ¹⁸Oδ Composition of Water Extracted from Suction Lysimeters, Centrifugation, and Azeotropic Distillation*. *Water. Air. Soil Pollut.* 184: 63-75. doi:10.1007/s11270-007-9399-8

- FLANAGAN, L.B., EHLERINGER, J.R., 1991. *Stable Isotope Composition of Stem and Leaf Water: Applications to the Study of Plant Water Use*. *Funct. Ecol.* 5: 270. doi:10.2307/2389264
- FLENKER, U., 2012. *Isotope ratio mass spectrometry - history and terminology in brief: IRMS - history and terminology*. *Drug Test. Anal.* 4: 893–896. doi:10.1002/dta.1399
- GAT, J.R., 1996. *Oxygen and hydrogen isotopes in the hydrologic cycle*. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 24: 225–262.
- GEDZELMAN, S.D., ARNOLD, R., 1994. *Modeling the isotopic composition of precipitation*. *J. Geophys. Res.* 99: 10455. doi:10.1029/93JD03518
- GIAUQUE, W.F., JOHNSTON, H.L., 1929. *An isotope of oxygen, mass 18. interpretation of the atmospheric absorption bands*. *J. Am. Chem. Soc.* 51: 1436–1441. doi:10.1021/ja01380a018
- GRIFFIS, T.J., SARGENT, S.D., LEE, X., BAKER, J.M., GREENE, J., ERICKSON, M., ZHANG, X., BILLMARK, K., SCHULTZ, N., XIAO, W., HU, N., 2010. *Determining the Oxygen Isotope Composition of Evapotranspiration Using Eddy Covariance*. *Bound.-Layer Meteorol.* 137: 307–326. doi:10.1007/s10546-010-9529-5
- GRÖNING, M., LUTZ, H.O., ROLLER-LUTZ, Z., KRALIK, M., GOURCY, L., PÖLTENSTEIN, L., 2012. *A simple rain collector preventing water re-evaporation dedicated for $\delta^{18}O$ and δ^2H analysis of cumulative precipitation samples*. *J. Hydrol.* 448–449: 195–200. doi:10.1016/j.jhydrol.2012.04.041
- HERVÉ-FERNÁNDEZ, P., OYARZÚN, C., BRUMBT, C., HUYGENS, D., BODE, S., VERHOEST, N.E.C., BOECKX, P., 2016. *Assessing the “two water worlds” hypothesis and water sources for native and exotic evergreen species in south-central Chile*. *Hydrol. Process.* 30: 4227–4241. doi:10.1002/hyp.10984
- HEWLETT, HIBBERT, A.R., 1966. *Factors affecting the response of small watersheds to precipitation in humid areas*. 1965 August 29–September 10. University Park, PA; Oxford. Pergamon Press, New York.
- HOEKSTRA, A.Y., MEKONNEN, M.M., 2012. *The water footprint of humanity*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109: 3232–3237. doi:10.1073/pnas.1109936109
- HSUEH, Y.-H., ALLEN, S.T., KEIM, R.F., 2016. *Fine-scale spatial variability of throughfall amount and isotopic composition under a hardwood forest canopy: Fine-scale spatial variability of throughfall*. *Hydrol. Process.* 30: 1796–1803. doi:10.1002/hyp.10772
- IANNONE, R.Q., ROMANINI, D., CATTANI, O., MEIJER, H.A.J., KERSTEL, E.R.T., 2010. *Water isotope ratio (δ^2H and $\delta^{18}O$) measurements in atmospheric moisture using an optical feedback cavity enhanced absorption laser spectrometer*. *J. Geophys. Res.* 115. doi:10.1029/2009JD012895
- JASECHKO, S., SHARP, Z.D., GIBSON, J.J., BIRKS, S.J., YI, Y., FAWCETT, P.J., 2013. *Terrestrial water fluxes dominated by transpiration*. *Nature* 496: 347–350. doi:10.1038/nature11983
- JAVAU, M., COUVREUR, V., VANDERBORGH, J., VERECKEN, H., 2013. *Root Water Uptake: From Three-Dimensional Biophysical Processes to Macroscopic Modeling Approaches*. *Vadose Zone J.* 12: 0. doi:10.2136/vzj2013.02.0042
- KAHMEN, A., SIMONIN, K., TU, K.P., MERCHANT, A., CALLISTER, A., SIEGWOLF, R., DAWSON, T.E., ARNDT, S.K., 2008. *Effects of environmental parameters, leaf physiological properties and leaf water relations on leaf water $\delta^{18}O$ enrichment in different Eucalyptus species*. *Plant Cell Environ.* 31: 738–751. doi:10.1111/j.1365-3040.2008.01784.x
- KOENIGER, P., MARSHALL, J.D., LINK, T., MULCH, A., 2011. *An inexpensive, fast, and reliable method for vacuum extraction of soil and plant water for stable isotope analyses by mass spectrometry: Vacuum extraction of soil and plant water for stable isotope analyses*. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 25: 3041–3048. doi:10.1002/rcm.5198
- LIS, G., WASSENAAR, L.I., HENDRY, M.J., 2008. *High-Precision Laser Spectroscopy D/H and $^{18}O/^{16}O$ Measurements of Microliter Natural Water Samples*. *Anal. Chem.* 80: 287–293. doi:10.1021/ac701716q
- LONGINELLI, A., SELMO, E., 2003. *Isotopic composition of precipitation in Italy: a first overall map*. *J. Hydrol.* 270: 75–88.
- MA, Y., SONG, X., 2016. *Using stable isotopes to determine seasonal variations in water uptake of summer maize under different fertilization treatments*. *Sci. Total Environ.* 550: 471–483. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.148
- MAJOUBE, M., 1971. *Fractionnement en ^{18}O entre la glace et la vapeur d'eau*. *J. Chim. Phys.* 68: 625–636. doi: 0.1051/jcp/1971680625
- MARCHINA, C., BIANCHINI, G., NATALI, C., PENNISI, M., COLOMBANI, N., TASSINARI, R., KNOELLER, K., 2015. *The Po river water from the Alps to the Adriatic Sea (Italy): new insights from geochemical and isotopic ($\delta^{18}O$ - δ^2D) data*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 5184–5203. doi:10.1007/s11356-014-3750-6
- MCDONNELL, J.J., 2014. *The two water worlds hypothesis: ecohydrological separation of water between streams and trees?* *Wiley Interdiscip. Rev. Water n/a-n/a*. doi:10.1002/wat2.1027
- MCDONNELL, J.J., BONELL, M., STEWART, M.K., PEARCE, A.J., 1990. *Deuterium variations in storm rainfall: Implications for stream hydrograph separation*. *Water Resour. Res.* 26: 455–458. doi:10.1029/WR026i003p00455
- MCGUIRE, K., MCDONNELL, J., 2007. *Stable Isotope Tracers in Watershed Hydrology*, in: Michener, R., Lajtha, K. (Eds.), *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK: 334–374. doi:10.1002/9780470691854.ch11
- MOHAMMED, A.M., KRISHNAMURTHY, R.V., KEHEW, A.E., CROSSEY, L.J., KARLSTROM, K.K., 2016. *Factors affecting the stable isotopes ratios in groundwater impacted by intense agricultural practices: A case study from the Nile Valley of Egypt*. *Sci. Total Environ.* 573: 707–715. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.08.095
- MUNKSGAARD N.C., CHEESMAN, A.W., WURSTER, C.M., CERNUSAK, L.A., BIRD, M.I., 2014. *Microwave extraction-isotope ratio infrared spectroscopy (ME-IRIS): a novel technique for rapid extraction and in-line analysis of $\delta^{18}O$ and δ^2H values of water in plants, soils and insects: Rapid extraction and isotope analysis of plant, soil and insect water*. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 28: 2151–2161. doi:10.1002/rcm.7005
- NEWBERRY S.L., PRECHSL U.E., PACE M., KAHMEN A., 2017. *Tightly bound soil water introduces isotopic memory effects on mobile and extractable soil water pools*. *Isotopes Environ. Health Stud.* 53: 368–381. doi:10.1080/10256016.2017.1302446
- OERTER E.J., BOWEN G., 2017. *In situ monitoring of H and O stable isotopes in soil water reveals ecohydrologic dynamics in managed soil systems*. *Ecohydrology* 10. doi:10.1002/eco.1841
- ORLOWSKI, N., FREDE, H.-G., BRÜGGEMANN, N., BREUER, L., 2013. *Validation and application of a cryogenic vacuum extraction system for soil and plant water extraction for isotope analysis*. *J. Sens. Sens. Syst.* 2: 179–193. doi:10.5194/jsss-2-179-2013
- ORLOWSKI, N., PRATT, D.L., MCDONNELL, J.J., 2016. *Intercomparison of soil pore water extraction methods for stable isotope analysis: Intercomparison of Soil Pore Water Extraction Methods*. *Hydrol. Process.* 30: 3434–3449. doi:10.1002/hyp.10870
- PAUL, A., HATTÉ, C., PASTOR, L., THIRY, Y., SICLET, F., BALESSENT, J., 2016. *Hydrogen dynamics in soil organic matter as determined by ^{13}C and 2H labeling experiments*. *Biogeosciences* 13: 6587–6598. doi:10.5194/bg-13-6587-2016
- PENNA, D., SCANDELLARI, F., ZANOTELLI, D., ENGEL, M., TAGLIAVINI, M., COMITI, F., 2016. *Ecohydrological interactions between soil and trees in Alpine apple orchards*, *Geophysical Research Abstracts*, Vol. 18, EGU2016-12516, 2016.

- RAMOS, T.B., SIMIONESEI, L., JAUCH, E., ALMEIDA, C., NEVES, R., 2017. *Modelling soil water and maize growth dynamics influenced by shallow groundwater conditions in the Sorraia Valley region, Portugal*. *Agric. Water Manag.* 185: 27–42. doi:10.1016/j.agwat.2017.02.007
- ROTHFUSS, Y., JAVAUX, M., 2017. *Reviews and syntheses: Isotopic approaches to quantify root water uptake: a review and comparison of methods*. *Biogeosciences* 14: 2199–2224. doi:10.5194/bg-14-2199-2017
- SOYLU, M.E., LOHEIDE, S.P., KUCHARIK, C.J., 2017. *Effects of Root Distribution and Root Water Compensation on Simulated Water Use in Maize Influenced by Shallow Groundwater*. *Vadose Zone J.* 16: 0. doi:10.2136/vzj2017.06.0118
- SPRENGER M., LEISTERT H., GIMBEL K., WEILER M., 2016. *Illuminating hydrological processes at the soil-vegetation-atmosphere interface with water stable isotopes: review of water stable isotopes*. *Rev. Geophys.* 54: 674–704. doi:10.1002/2015RG000515
- STAGGE, J.H., KINGSTON, D.G., TALLAKSEN, L.M., HANNAH, D.M., 2017. *Observed drought indices show increasing divergence across Europe*. *Sci. Rep.* 7. doi:10.1038/s41598-017-14283-2
- STEIN, U., ÖZEROL, G., TRÖLTZSCH, J., LANDGREBE, R., SZENDRENYI, A., VIDAURRE, R., 2016. *European Drought and Water Scarcity Policies*, in: Bressers, H., Bressers, N., Larrue, C. (Eds.), *Governance for Drought Resilience*. Springer International Publishing, Cham: 17–43. doi:10.1007/978-3-319-29671-5_2
- THOMA, M., FRENTRESS, J., TAGLIAVINI, M., SCANDELLARI, F., accettato per la pubblicazione. *Comparison of Pore Water Samplers and Cryogenic Distillation under Laboratory and Field Conditions for Soil Water Stable Isotope Analysis*. *Isotopes Environ. Health Stud.*
- UREY, H.C., BRICKWEDDE, F.G., MURPHY, G.M., 1932. *A hydrogen isotope of mass 2 and its concentration*. *Phys. Rev.* 40: 1.
- VANDOORNE, B., BEFF, L., LUTTS, S., JAVAUX, M., 2012. *Root Water Uptake Dynamics of Cichorium intybus var. sativum Under Water-Limited Conditions*. *Vadose Zone J.* 11: 0. doi:10.2136/vzj2012.0005
- VARGAS, A.I., SCHAFFER, B., YUHONG, L., STERNBERG, L. DA S.L., 2017. *Testing plant use of mobile vs immobile soil water sources using stable isotope experiments*. *New Phytol.* 215: 582–594. doi:10.1111/nph.14616
- WASSENAAR, L.I., HENDRY, M.J., CHOSTNER, V.L., LIS, G.P., 2008. *High resolution pore water $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ measurements by H_2O (liquid)- H_2O (vapor) equilibration laser spectroscopy*. *Environ. Sci. Technol.* 42: 9262–9267.
- WEN, X.-F., MENG, Y., ZHANG, X.-Y., SUN, X.-M., LEE, X., 2013. *Evaluating calibration strategies for isotope ratio infrared spectroscopy for atmospheric $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ measurement*. *Atmospheric Meas. Tech. Discuss.* 6: 795–823. doi:10.5194/amtd-6-795-2013
- WILLIAMS, D.G., CABLE, W., HULTINE, K., HOEDJES, J.C.B., YEPEZ, E.A., SIMONNEAUX, V., ER-RAKI, S., BOULET, G., DE BRUIN, H.A.R., CHEHBOUNI, A., HARTOGENSIS, O.K., TIMOUK, F., 2004. *Evapotranspiration components determined by stable isotope, sap flow and eddy covariance techniques*. *Agric. For. Meteorol.* 125: 241–258. doi:10.1016/j.agrformet.2004.04.008
- YANG, B., WEN, X., SUN, X., 2015. *Irrigation depth far exceeds water uptake depth in an oasis cropland in the middle reaches of Heihe River Basin*. *Sci. Rep.* 5. doi:10.1038/srep15206
- YANG, Q., XIAO, H., ZHAO, L., ZHOU, M., LI, C., CAO, S., 2010. *Stable isotope techniques in plant water sources: a review*. *Sci. Cold Arid Reg.* 2: 0112–0122.
- ZHU, S., CHEN, H., ZHANG, X., WEI, N., SHANGGUAN, W., YUAN, H., ZHANG, S., WANG, L., ZHOU, L., DAI, Y., 2017. *Incorporating root hydraulic redistribution and compensatory water uptake in the Common Land Model: Effects on site level and global land modeling: Incorporating New RWU Functions in CoLM*. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 122: 7308–7322. doi:10.1002/2016JD025744.