

Il rapporto isotopico dell'ossigeno dei fosfati ($\delta^{18}\text{O}_p$): un nuovo tracciante per lo studio del metabolismo del fosforo negli ecosistemi?

Chiara Pistocchi

Scuola Superiore Sant'Anna - Pisa
chiara.pistocchi@sssup.it

Il fosforo (P) è uno dei principali elementi limitanti per la produttività degli ecosistemi terrestri ed acquatici, per questo motivo è alla base dei ben noti fenomeni di eutrofizzazione specialmente negli ecosistemi d'acqua dolce. L'individuazione delle sorgenti potenziali di questo elemento, siano esse diffuse o puntuali, è uno degli elementi più importanti nella messa in atto di strategie efficaci per la mitigazione dei fenomeni di eutrofizzazione. La speciazione del P nell'ambiente è complessa poiché esso è presente in diverse forme sia organiche che inorganiche, in fase solida (apatiti), come composti disciolti (ione ortofosfato, polifosfati, fosfo-esteri) o adsorbiti su fasi solide come le argille o gli ossidi e idrossidi di ferro ed alluminio. Tuttavia è in forma di ione ortofosfato (più comunemente detto fosfato) in soluzione che il P è immediatamente biodisponibile.

A causa di questa complessità e delle possibili evoluzioni biochimiche cui può andare incontro nei diversi compartimenti ambientali e durante il suo trasferimento da un compartimento all'altro, la speciazione del P non costituisce un tracciante sufficiente delle sorgenti potenziali del fosforo. Contrariamente all'azoto, al carbonio o all'ossigeno, il fosforo ha un solo isotopo stabile (^{31}P), ma in tutti i composti presenti in natura è fortemente legato all'ossigeno, quindi la composizione isotopica dell'ossigeno dello ione ortofosfato ($\delta^{18}\text{O}_p$), che, come si è detto, è la forma del P più biodisponibile, può fornire una firma caratteristica dell'origine dei processi che l'hanno prodotta. Lo stato delle conoscenze a questo riguardo è ancora frammentario. Tuttavia in base alle conoscenze attuali è possibile affermare che:

- In assenza di attività biologica e alle condizioni di pH e temperatura della maggior parte degli ecosistemi terrestri, il legame P-O resiste all'idrolisi e lo scambio tra l'ossigeno del fosfato e quello dell'acqua è trascurabile (Lecuyer et al., 1999). Di conseguenza, in ambienti a limitata attività biologica (ad es. le acque sotterranee) la composizione isotopica tende a conservarsi. Ugualmente i fenomeni di precipitazione o di adsorbimento implicano frazionamenti trascurabili (Liang and Blake, 2007; Jais and Blake, 2010).
- I processi biologici che conducono all'idrolisi enzimatica dei legami P-O, provocano significativi shift nella composizione isotopica del fosfato risultante (frazionamento di tipo cinetico, enzima e substrato-specifico, come è il caso delle fosfatasi, Blake et al. 1997, 2000, 2005; Colman et al., 2005) o un frazionamento isotopico di equilibrio dipendente dalla temperatura, descritto per la prima volta nel pionieristico lavoro di Longinelli et Nuti (1973). I lavori più recenti hanno dimostrato che questo equili-

brio è il prodotto dell'azione di un enzima ubiquitario nelle cellule viventi: la pirofosfatasi, enzima responsabile dell'idrolisi della molecola di pirofosfato ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$), la cui attività è spesso il processo dominante nel determinare la composizione isotopica del fosfato presente in un organismo o in un ecosistema (ad esempio gli ecosistemi marini a basso tenore di P).

In virtù della dipendenza dalla temperatura del frazionamento isotopico indotto dall'attività intracellulare della pirofosfatasi, l'utilizzo del $\delta^{18}\text{O}_p$ delle bio-apatiti (ossa, denti etc.) come paleo termometro è consolidato da tempo (Longinelli e Nuti, 1973; Iacumin e Longinelli, 2002). Soltanto recentemente alcuni studiosi hanno utilizzato il $\delta^{18}\text{O}_p$ del fosfato disciolto in ambienti acquatici (estuarini, marini e lacustri) per tracciare le sorgenti potenziali del P o il suo *turnover* biologico in questi sistemi (Markel et al., 1994; Mclaughlin et al., 2004; Colman et al., 2005; Mclaughlin et al., 2006; Elsbury et al., 2009). Studi ancora più recenti hanno concentrato l'attenzione su ambienti terrestri con lo scopo di indagare gli aspetti legati al riciclo del P per opera dei microorganismi del terreno o all'assorbimento delle piante in relazione ai differenti pool di P presenti nel suolo (Zohar et al., 2010; Tamburini et al., 2012; Angert et al., 2011).

Alla luce dei risultati attualmente disponibili si può quindi ipotizzare che:

- In certi casi (limitata attività biologica, brevi tempi di residenza, P non limitante), il $\delta^{18}\text{O}_p$ può essere utilizzato con successo per tracciare e caratterizzare le sorgenti di P in ambiente acquatico, ed in particolare per quantificare l'impatto sul bilancio di quelle sorgenti difficili da quantificare quali la carica interna (rilascio di P da parte dei sedimenti) nei laghi eutrofici.
- L'evoluzione della firma isotopica appare un valido strumento in grado di caratterizzare globalmente il metabolismo del P in ecosistemi acquatici e terrestri, consentendo ad esempio di stabilire la velocità del *turnover* biologico, la biodisponibilità dei differenti pool (relazione speciazione-biodisponibilità) etc.

Gli studi più recenti hanno determinato tra l'altro un notevole sviluppo dei metodi di estrazione e purificazione dell'ortofosfato sia da matrice liquida (acque) che solida (terreni, sedimenti), il che rende lecito supporre un utilizzo più diffuso di questo tracciante isotopico. Tuttavia rimangono ancora una serie di importanti limitazioni al suo uso operativo. La conoscenza relativa ai frazionamenti isotopici cinetici o di equilibrio associati alle diverse trasformazioni biologiche del P (es. assimilazione, organizzazione) è ancora assai frammentaria. Ed in particolare, manca ancora una caratterizzazione esaustiva

dei frazionamenti associati all'attività dei diversi enzimi coinvolti nel ciclo del P. Inoltre i dati disponibili sulla composizione isotopica e l'intervallo di variabilità delle sorgenti potenziali del P (fertilizzanti di sintesi chimica, P degli scarchi urbani ed agricoli, deposizioni atmosferiche etc.) sono ancora molto pochi, soprattutto per quanto riguarda i sistemi d'acqua dolce, e concentrati geograficamente nei luoghi in cui gli studi a questo riguardo sono stati condotti sistematicamente (ad esempio il Nord America). La principale limitazione all'utilizzo come tracciante in ambienti acquatici risiede comunque nella potenziale sovrapposizione della firma isotopica delle diverse sorgenti potenziali (figura 1) e nell'impossibilità di usare per la molecola del fosfato un altro indicatore isotopico (come ad esempio è il caso dei nitrati, in cui si misura sia la composizione isotopica dell'ossigeno che quella dell'azoto).

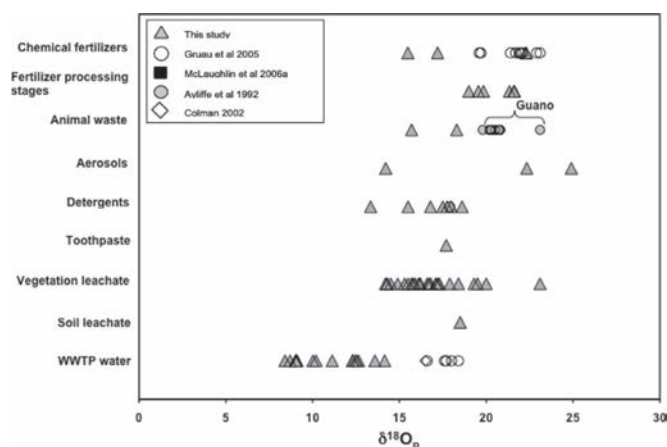


Fig. 1: $\delta^{18}O_p$ di diverse sorgenti potenziali di P (la composizione isotopica è espressa in notazione δ in riferimento allo standard VSMOW, da Young et al., 2009).

Ciò limita l'utilizzo del $\delta^{18}O_p$ come tracciante a quei casi (sito-specifici) in cui le singole sorgenti abbiano una composizione isotopica sufficientemente distinta e/o si possano utilizzare in associazione altri indicatori, ad esempio la speciazione e la concentrazione del P, che di per sé sarebbero insufficienti ad identificarne l'origine.

Assai promettente sembra essere l'utilizzo del $\delta^{18}O_p$ per lo studio della ciclizzazione del P nel sistema pianta-terreno, ed in particolare del ruolo della componente microbica nella mineralizzazione del P organico e quindi nella costituzione del pool di P disponibile per gli organismi vegetali. Su questi meccanismi ancora molte sono le incertezze e esistono pochissime evidenze dirette (escluse quelle in ambiente controllato) del ruolo dell'attività microbica nell'immobilizzazione e successivo rilascio del P (Tamburini et al., 2012).

Infine è utile sottolineare che il $\delta^{18}O_p$ come ogni altro tracciante può fornire informazioni fuorvianti, anche in considerazione del fatto che frazionamenti con effetto opposto possono sovrapporsi, quindi è sempre opportuno valutare l'utilizzo di altri traccianti isotopici e non (terre rare, radionuclidi, metalli) in associazione ad esso. Un esempio è quello del cadmio nello studio dell'impatto di lungo termine dell'applicazione sui terreni di fertilizzanti fosfatici.

BIBLIOGRAFIA

- Angert A, Weiner T, Mazeh S, Tamburini F, Frossard E, Bernasconi SM, Sternberg M (2011) Seasonal variability of soil phosphate stable oxygen isotopes in rainfall manipulation experiments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 75:4216-4227
- Blake RE, Alt JC, Martini AM (2000) Oxygen isotope ratios of PO₄: An inorganic indicator of enzymatic activity and P metabolism and a new biomarker in the search for life. *PNAS* 98:2148-2153
- Blake RE, Neil RO, Garcia GA (1997) Oxygen isotope systematics of biologically mediated reactions of phosphate: I. Microbial degradation of organophosphorus compounds. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61:4411-4422
- Blake RE, Neil JRO, Surkov AV (2005) Biogeochemical cycling of phosphorus: insights from oxygen isotope effects of phosphoenzymes. *American Journal of Science* 305:596-620
- Colman AS, Blake RE, Karl DM, Fogel ML, Turekian KK (2005) Marine phosphate oxygen isotopes and organic matter remineralization in the oceans. *PNAS* 12:13023-13028
- Elsbury KE, Paytan A, Ostrom NE, Kendall C, Young MB, Mclaughlin K, Rollog ME, Watson S (2009) Using Oxygen Isotopes of Phosphate To Trace Phosphorus Sources and Cycling in Lake Erie Using Oxygen Isotopes of Phosphate To Trace Phosphorus Sources and Cycling in Lake Erie. *Environmental Science & Technology* 43: 3108-3114
- Iacumin P, Longinelli A, (2002) Relationship between $\delta^{18}O$ values for skeletal apatite from reindeer and foxes and early mean $\delta^{18}O$ values of environmental water. *Earth and Planetary Science Letters*. Vol.201, p.213-219.
- Jaisi DP, Blake RE (2010) Tracing sources and cycling of phosphorus in Peru Margin sediments using oxygen isotopes in authigenic and detrital phosphates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74:3199-3212
- Lecuyer C, Grandjean P, Sheppard S (1999) Oxygen isotope exchange between dissolved phosphate and water at temperatures < 135 °C: Inorganic versus biological fractionations. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63:855- 862
- Liang Y, Blake RE (2007) Oxygen isotope fractionation between apatite and aqueous-phase phosphate: 20 – 45 °C. *Chemical Geology* 238:121 - 133
- Longinelli A, Nuti S (1973) Oxygen isotope measurements of phosphate from fish, teeth and bones. *Earth and Planetary Science Letters* 19:373-376
- Markel D, Kolodny Y, Luz B, Nishri A (1994) Phosphorus cycling and phosphorus sources in Lake Kinneret: Tracing by oxygen isotopes in phosphate. *Israel Journal of Earth Sciences* 43:165-178
- Mclaughlin K, Cade-menun BJ, Paytan A (2006) The oxygen isotopic composition of phosphate in Elkhorn Slough, California: A tracer for phosphate sources. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 70:499-506
- Mclaughlin K, Silva S, Kendall C, Stuart-williams H, Paytan A (2004) A precise method for the analysis of $\delta^{18}O$ of dissolved inorganic phosphate in seawater. *Limnol. Oceanogr. Methods* 2:202-212
- Tamburini F, Bernasconi SM, Angert a., Weiner T, Frossard E (2010) A method for the analysis of the $\delta^{18}O$ of inorganic phosphate extracted from soils with HCl. *European Journal of Soil Science* 61:1025-1032
- Tamburini F, Pfhaler V, Bunemann E, Guelland K, Bernasconi S, Frossard E. (2012) Oxygen isotopes unravel the role of microorganisms in phosphate cycling in soils. *Enviro. Sci. Technol.* 46: 5956-5962
- Young MB, Mclaughlin K, Kendall K, Stringfellow W, Rollog M, Elsbury K, Donald E. Paytan A (2009). Characterizing the oxygen isotopic composition of phosphate sources to aquatic ecosystems. *Enviro. Sci. Technol.* 43: 5190-5196
- Zohar I, Shaviv A, Young M, Kendall C, Silva S, Paytan A (2010) Geoderma Phosphorus dynamics in soils irrigated with reclaimed waste water or fresh water - A study using oxygen isotopic composition of phosphate. *Geoderma* 159:109-121