



**HAL**  
open science

# Biogéochimie du carbone organique dans les eaux de tourbières à pergélisols : une approche expérimentale

Dahédrey Payandi-Rolland

► **To cite this version:**

Dahédrey Payandi-Rolland. Biogéochimie du carbone organique dans les eaux de tourbières à pergélisols : une approche expérimentale. Géochimie. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2020. Français. NNT : 2020TOU30266 . tel-03236081

**HAL Id: tel-03236081**

**<https://theses.hal.science/tel-03236081>**

Submitted on 26 May 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# THÈSE

## En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

---

Présentée et soutenue par  
**Dahédrey PAYANDI-ROLLAND**

Le 10 décembre 2020

**Biogéochimie du carbone organique dans les eaux de tourbières à  
pergélisols : une approche expérimentale**

---

Ecole doctorale : **SDU2E - Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de  
l'Espace**

Spécialité : **Surfaces et interfaces continentales, Hydrologie**

Unité de recherche :

**GET - Geosciences Environnement Toulouse**

Thèse dirigée par

**Pascale BENEZETH et Liudmila SHIROKOVA**

Jury

**Mme Emma J. ROCHELLE-NEWALL**, Rapporteur

**Mme Isabelle LAURION**, Rapporteur

**M. Bruno LARTIGES**, Examineur

**Mme Marie ALEXIS**, Examinatrice

**M. Jean-Luc ROLS**, Examineur

**M. Rinat MANASYPOV**, Examineur

**Mme Pascale BENEZETH**, Directrice de thèse

**Mme Liudmila SHIROKOVA**, Co-directrice de thèse





# Résumé

Dans le contexte actuel du réchauffement climatique et de son amplification dans les régions nordiques, l'objectif principal de cette thèse est d'évaluer les facteurs pouvant influencer la dégradation de la matière organique (MO) contenue dans les tourbières à pergélisol. Dans ce but, nous avons étudié l'effet des paramètres, directement ou indirectement influencés par le changement climatique, sur la dégradation de la MO. Des études de terrains et des expérimentations ont été effectuées dans des zones à pergélisol discontinu de la Suède et de l'Est Sibérien, associées à des expériences en laboratoire utilisant des substrats de ces régions et du Nord-Est de l'Europe. Ces études ont eu pour but de déterminer l'influence des paramètres physico-chimiques suivant sur la dégradation de la MO: la température, la biomasse microbienne, l'origine de la MO, le type de végétation, l'hétérogénéité des plans d'eau, les cycles de gel-dégel (CGD), les conditions anoxiques et la profondeur des sols. L'originalité de ce travail réside dans la combinaison d'analyses (bio)géochimiques variées, utilisées à la fois lors des missions de terrain et en laboratoire, liant la microbiologie et la géochimie, pour comprendre la transformation de la MO dans les régions arctiques.

Après une introduction générale présentant l'impact et la rétroaction positive que peut avoir le dégel du pergélisol sur le réchauffement climatique, le premier chapitre de cette thèse présente le contexte général du sujet d'étude, traitant de la MO et des problèmes actuels des régions arctiques face à ce réchauffement. Il contient aussi les techniques, analyses et méthodes utilisées durant cette thèse. Le second chapitre décrit les 3 sites d'étude et les caractéristiques générales des travaux réalisés sur le terrain, dont l'étude du comportement de la MO durant les cycles nycthémeraux. Le troisième chapitre traite de l'influence de l'origine de la MO et de l'hétérogénéité des plans d'eau sur la biodégradation de la MO. Le chapitre quatre s'intéresse aux effets des CGD subis par les eaux des tourbières durant les périodes de transition (début du printemps et fin de l'automne). Finalement, le cinquième chapitre traite d'expérimentations aérobies et anaérobies de dégradation de la MO. Les expérimentations aérobies traitent de l'effet de la température et des bactéries hétérotrophes sur la biodégradation, et les expérimentations anaérobies ont été effectuées

pour déterminer le potentiel de production en gaz à effet de serre d'un profil de sol issu d'une tourbière.

Parmi les résultats les plus importants de cette thèse, on retiendra que : *i)* durant la nuit les petits lacs thermokarstiques relarguent jusqu'à 3 fois plus de CO<sub>2</sub> que durant la journée et que les grands lacs passent de puits à source de CO<sub>2</sub> ; *ii)* le long d'un continuum hydrologique (des dépressions jusqu'aux rivières en passant par les lacs thermokarstiques), la vitesse de biodégradation de la MO diminue et la biodégradabilité des eaux augmente ; *iii)* les CGD fréquents durant les périodes de transition n'influencent pas la dégradation de la MO mais favorisent la complexation MO-métaux dans les eaux à pH neutres des grands lacs et rivières; *iv)* les températures de ces périodes (4°C environ) ont le même impact sur la biodégradation de la MO que celles observées en été (25°C) ; *v)* enfin, lors du dégel anaérobie du pergélisol, la biodégradation de la MO de ce dernier ne produit pas plus de CH<sub>4</sub> ni de CO<sub>2</sub> que celle de la couche active.

Les études menées lors de cette thèse devraient préciser les effets, directs et/ou indirects, du changement climatique sur la dégradation de la MO dans les régions à pergélisol discontinu. De plus, l'étude du devenir du carbone contenu dans les sols et les eaux des tourbières ainsi que les émissions de CO<sub>2</sub> et de CH<sub>4</sub>, permettra d'appréhender l'influence du changement climatique sur les interactions entre le carbone biodégradé de la pédo- et de l'hydrosphère pouvant être émis vers l'atmosphère.

# *Abstract*

The anthropogenic emissions of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) into the atmosphere are held responsible for the current global warming experienced by the Earth. Given the amplified effect of warming in the northern regions, the main objective of this thesis is to assess the factors that could influence the organic matter (OM) degradation within a carbon-rich permafrost peatland. For this purpose, we studied the effect of biological and geochemical parameters, which are directly or indirectly influenced by climate change, on the degradation of OM. Field studies and experiments were carried out in discontinuous permafrost areas of Eastern Siberia and Sweden, along with laboratory experiments using substrates from these regions and from peatlands of NE Europe. Experiments were conducted as a function of temperature, bacterial biomass, OM origins, water bodies heterogeneity, vegetation type, freezing and thawing cycles, anoxic conditions and soil depths. The originality of this work consists in the combination of various (bio)geochemical analyses using both fieldwork and laboratory approaches linking the different systems controlling OM degradation in the natural environment (mainly microbiology and geochemistry).

After an introduction dealing with possible positive feedback of OM degradation in northern peatlands on climate warming, the first chapter is dedicated to a general context giving an insight of the OM in the arctic region under climate change challenges and presenting all the techniques, analyses and methods employed for this thesis. The second chapter describes the three studied sites and the general fieldwork, which involved the study of OM behaviour during diel cycles. The third chapter tackles the origin of OM and the water bodies heterogeneity effect on the biodegradation of OM. The fourth chapter investigates the impact of freeze-thaw cycles of peatland water bodies on OM degradation during transitional periods, such as early spring and late autumn. Finally, the last chapter reports the result of aerobic and anaerobic experiments. The aerobic experiment tests the effect of temperature and heterotrophic bacteria on biodegradation, while the anaerobic experiment deals with the potential production of greenhouse gases from a soil profile collected in a peatland.

The main results of this thesis highlight that *i)* during the night, small thermokarst lakes release up to three times more CO<sub>2</sub> compared to day-time, and big lakes become a source of

CO<sub>2</sub> rather than a sink; *ii*) along a hydrological continuum, from supra-permafrost water to rivers through thermokarst lakes, the degradation rate of OM decreases and the biodegradability of waters increases; *iii*) recurrent freeze-thaw cycles during early spring and late autumn do not influence the degradation of carbon but favor the OM-metals complexes in neutral pH waters of large lakes and rivers; *iv*) temperatures during these transitional periods (4 °C) exhibit the same effect on biodegradation than the summer temperatures (25 °C); and *v*) when frozen peat thaws, it does not release a significantly different amount of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> from biodegradation processes compared to the active layer.

The studies carried out in this work bring an overview of the various direct and/or indirect effects of climate change on the OM transformation by biotic and abiotic factors in a discontinuous permafrost area. Furthermore, the study of carbon behaviour in wetlands soils and waters, as well as CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> emissions, may help to determine the influence of climate change on the interactions of biodegraded carbon from pedo- and hydrosphere with the atmosphere.



# *Remerciements*

Comme tant de doctorants l'ont dit avant moi, une thèse n'est pas un travail individuel. Elle est le fruit de collaboration, de discussion et d'un travail d'équipe. Je tiens donc à remercier un grand nombre de personnes, mais je vais tenter d'être concise.

En commençant par les premières concernées, mes deux directrices de thèse Pascale et Liudmila. Merci à vous deux d'avoir cru en moi au début de cette thèse alors que je n'étais pas certaine moi-même de vouloir en faire une. Merci d'avoir été toujours disponibles lorsque j'en avais besoin et d'avoir tout mis en œuvre pour que cette thèse se déroule au mieux (malgré quelques expériences ratées). Merci également d'avoir toujours pris le temps de revoir, avec une grande patience et autant de fois que nécessaire mes écrits et présentations pour en tirer le meilleur. Et enfin merci de m'avoir donné l'opportunité d'encadrer des stagiaires. Toutes ces expériences ont été plus qu'enrichissantes et je ne saurai vous dire à quel point je vous en suis reconnaissante.

Je tiens aussi à remercier Oleg, car durant ces 3 années il ne te manquait que le titre officiel de directeur de thèse. Merci pour tous tes conseils et ta disponibilité. Grâce à toi l'écriture de nos articles a été plus qu'efficace (au minimum 6 versions entre nous avant de la partager aux autres co-auteurs). Merci de m'avoir donné l'occasion de réaliser ma première mission de terrain solo en Suède.

J'adresse un grand merci à Jean-Luc pour son aide concernant les analyses microbiologiques menées à ECOLAB, mais aussi pour ses conseils durant les comités de suivi de thèse et en dehors, ainsi que pour toutes ses corrections d'articles et de manuscrit. Je tiens aussi à remercier toutes les personnes qui m'ont aidées avec ces mêmes analyses microbiologiques et chimiques à ECOLAB : Jessica, Joey, Frédéric et Joséphine.

Je remercie Bruno pour son aide et ses conseils, ainsi que pour l'initiation à la microscopie électronique à transmission. J'en profite aussi pour remercier Vanessa qui s'est occupée de la préparation de nos lames pour cette analyse.

Merci aussi à Marie pour ses conseils durant les comités de suivi. Je voudrais aussi remercier Alienor, ces expériences terminées 2 semaines avant ma soutenance ont été physiquement éprouvantes mais aussi très sympathiques et distrayantes. Au plaisir de retravailler ensemble, un jour peut-être.

Merci aussi au dernier membre de mon comité de suivi : Stéphane, pour ta bonne humeur et ton aide avec le lyophilisateur. PS : elle est sympa notre salle de manip non ?

Durant cette thèse j'ai aussi pu réaliser des analyses de gaz à effet de serre et pour cela je dois remercier Frédérique, Dominique et Eric au laboratoire LA, pour leurs aides et leurs conseils. Je remercie également Robin pour son aide concernant les isotopes du carbone.

J'ai beaucoup appris durant ces 3 ans et c'est en grande partie grâce à Carole et Alain. Merci à vous deux d'avoir tout mis en œuvre pour m'aider et toujours avec le sourire. Merci aussi à Klervia pour son aide en salle grise.

A huge thanks to the Tomsk team, with who I had an amazing time in the Siberian mires. Every inch of this field trip was amazing and will always be in my mind and heart. Thank you to Daria, Rinat, Sergey and Alexandre. And a special thanks to Artem without who I swear I would have done so many things the wrong way. I do not doubt that your thesis manuscript will be like you, an inexhaustible source of techniques, tips and tricks, and of knowledge. I hope to see you all again in Tomsk or anywhere life could bring us together.

I also had the chance to visit Sweden and have been so welcomed there. Thanks to Reiner and Jan, I have learned a lot working with you, even if it was only for a few days. Thank you to Svetlana for the lesson of floating chamber gas calculations. And thanks to Karl for the help with the pCO<sub>2</sub> sensor. Besides the "work" time during my stay at the Abisko station, I also had the chance to meet a lot of international students who had one thing in common: they were passionate by science and environment of northern regions. I had so many wonderful dinners and lakeside sauna with all of you guys so thank you.

Je tiens aussi remercier les 3 personnes sans qui jamais je n'aurais jamais fait une thèse : mes encadrantes de master 2. Merci à Emmanuelle, Irina et Adeline. Durant ma première année de master j'avais perdu l'envie de faire de la science mais grâce à cette année de master 2 passée avec vous je l'ai retrouvée. Merci de m'avoir dirigée vers celles qui ont été mes

directrices de thèses. Grâce à vous j'ai visé et obtenu le plus haut diplôme de l'université, le doctorat, et je n'en suis pas peu fière.

Comme tout le monde le sait, la thèse est une expérience qui peut s'avérer compliquée et stressante alors je voudrais remercier les collègues doctorants et postdoctorants (et chercheurs) avec qui j'ai passé ces 3 dernières années et qui ont su égayer les journées et les pauses terrasse au laboratoire. Merci à mes co-bureau anciens et nouveaux : Mélody, Artiom, Céline et Anne. Merci à ceux que j'ai découvert en arrivant au laboratoire durant ma première année : Anissa, Chiara, Valeria, Camila, Mathilde, Vianney, Clément, Inès, Léopold et Laurent. Merci aussi à la nouvelle génération : Rémi, Rim, Neil, Sylvain, Noé et Laudine. Merci aux stagiaires avec qui j'ai passé de très bons moments en salle des bestioles et qui pour certaines sont devenues des collègues doctorants : Paty, Mara, Ahmed, Julien et Fabian.

Merci à mes amis qui même s'ils n'ont pas pu être présents le jour de la soutenance, étaient présents pendant ces 3 ans et bien plus : merci à Clémentine (aka le fruit), Hadrien, Léa (aka Pedro), Margaux et Léo. Merci aussi à ma maman adoptive, Claire qui a bravé le confinement pour venir me voir le jour de ma soutenance, je t'en suis tellement reconnaissante.

Finalement, je voudrais remercier ma famille qui m'a toujours soutenue (même de loin). Ma mère, mes frères et mes grands-parents qui sont toujours là quoi qu'il arrive. Ma famille est bien plus grande que ça, alors encore merci à tous d'avoir été là pour ma soutenance (en visio à minuit) et merci à mon cousin d'avoir été dans la salle le jour de ma soutenance.



# *Table des matières*

<b>RESUME .....</b>	<b>I</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>III</b>
<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>V</b>
<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>IX</b>

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## **CHAPITRE 1**

<b>CONTEXTE, TERMINOLOGIE, MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>7</b>
---	----------

<b>Introduction.....</b>	<b>8</b>
--------------------------	----------

### **Section 1.1**

<b>Contexte et terminologie.....</b>	<b>9</b>
--------------------------------------	----------

1.1.1 Les tourbières en région nordique .....	10
1.1.1.1 Zones humides et tourbières .....	10
1.1.1.2 Tourbières en zone boréale, subarctique et arctique.....	10
1.1.1.3 Les sols et composition de la tourbe.....	12
1.1.1.4 Végétation des tourbières Arctiques .....	13
1.1.1.5 Pergélisol .....	17
a. Pergélisol et matière organique stockée .....	17
b. Formation des lacs thermokarstiques.....	19
1.1.2 Cycle du carbone des tourbières nordiques.....	21
1.1.2.1 Le carbone dans les sols.....	21
1.1.2.2 Transport du carbone des sols et de la végétation vers les points d'eaux ..	24
1.1.2.3 Le carbone dans les eaux .....	24
1.1.3 Le réchauffement climatique et ses conséquences en régions nordiques .....	27
1.1.3.1 Prédiction climatiques et températures.....	27
1.1.3.2 Conséquences .....	28

### **Section 1.2**

<b>Matériels et Méthodes .....</b>	<b>31</b>
------------------------------------	-----------

1.2.1 Méthode d'échantillonnage .....	32
1.2.1.1 Prélèvements de tourbe et de la végétation sur le terrain.....	32
1.2.1.2 Prélèvements gazeux sur le terrain.....	32
1.2.1.3 Prélèvements d'eaux sur le terrain .....	34
a. Prélèvements .....	34

	b.	Filtration et ultrafiltration des eaux prélevées .....	34
	c.	Fixation et conservation.....	35
1.2.2		Mesures in situ .....	35
	1.2.2.1	Paramètres physico-chimiques .....	35
	1.2.2.2	Flux de CO <sub>2</sub> , utilisation d'un système de chambre flottante .....	35
1.2.3		Expériences en laboratoire.....	36
	1.2.3.1	Culture et concentration de la biomasse microbienne : <i>Iodobacter</i> sp.....	36
	1.2.3.2	Lixiviation/lessivage des substrats .....	37
	1.2.3.3	Microcosmes en conditions aérobies.....	38
	a.	Expérience de l'effet de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes sur la biodégradation et le relargage de MO provenant de la tourbe gelée (cf. chapitre 5 section 5.1.) : .....	39
	b.	Expérience de biodégradation de la matière organique dissoute provenant d'un transect hydrologique (cf. chapitre 3).....	41
	c.	Expérience de l'effet du gel-dégel sur le comportement de la MOD et des éléments traces (ET) (cf. chapitre 4) .....	42
	1.2.3.4	Microcosmes en conditions anaérobies (cf. chapitre 5 section 5.2).....	44
1.2.4		Analyses en laboratoire .....	47
	1.2.4.1	Analyses des phases solides - Microscopie électronique à transmission (MET) .....	47
	1.2.4.2	Analyses des phases liquides.....	48
	a.	Paramètres physico-chimiques (pH et conductivité).....	48
	b.	Carbone organique et inorganique dissous (COD et CID).....	49
	c.	Acides organiques et anions .....	49
	d.	Spectrophotométrie et indices calculés.....	49
	e.	Eléments traces (ET).....	52
	1.2.4.3	Analyses des phases gazeuses.....	52
	a.	Mesure des concentrations de gaz à effet de serre.....	53
	b.	Calcul des taux de productions .....	57
	1.2.4.4	Analyse microbiologique .....	58
	a.	Dénombrement total des bactéries par coloration DAPI .....	58
	b.	Dénombrement total des bactéries par cytométrie en flux .....	58
	c.	Dénombrement des colonies formatrices d'unités (CFU) .....	59
	d.	Diversité fonctionnelle .....	59
1.2.5		Statistiques .....	60
	1.2.5.1	Hypothèse nulle, p-value et seuil de confiance .....	61
	1.2.5.2	Tester la distribution des données.....	61
	1.2.5.3	Test de student (ou test t).....	61
	1.2.5.4	Test ANOVA à un facteur.....	62
	1.2.5.5	Analyse en composantes principales (ACP) .....	62
	1.2.5.6	Régression linéaire simple.....	63
	1.2.5.7	Représentation graphique des données : Boxplot (la boîte à moustaches) 63	

## **CHAPITRE 2**

### **LE TERRAIN – OBSERVATION DU SYSTEME NATUREL COMPLEXE..... 65**

#### **Introduction..... 66**

#### **Section 2.1**

##### **Sites d'étude et analyses des eaux prélevées en Sibérie et Suède ..... 67**

- 2.1.1. Présentation des sites d'étude ..... 68
  - 2.1.1.1. Sibérie Occidentale - Khanymey..... 69
  - 2.1.1.2. Russie Européenne – Bolshezemelskaya Tundra (BZT)..... 70
  - 2.1.1.3. Suède - Abisko ..... 70
- 2.1.2. Missions de terrain – les données récoltées ..... 71
  - 2.1.2.1. Paramètres physico-chimiques et biologiques généraux des eaux prélevées sur le terrain ..... 75
  - 2.1.2.2. Matière organique dissoute ..... 76
    - a. Répartition des concentrations en carbone organique dissous des eaux étudiées ..... 76
    - b. Composition et origine de la matière organique dissoute ..... 79
  - 2.1.2.3. Répartition des éléments traces métalliques dissous dans les eaux étudiées ..... 81
  - 2.1.2.4. Dégradation de la MOD colloïdale et implications environnementales ..... 86

#### **Section 2.2**

##### **Diel cycle of carbon, nutrient and metal in humic lakes of permafrost peatlands..... 89**

- 2.2.1 Aperçu en français de l'article ..... 90
  - 2.2.1.1 Résumé..... 90
  - 2.2.1.2 Conclusion ..... 91
- 2.2.2 Abstract..... 92
- 2.2.3 Introduction ..... 93
- 2.2.4 Material and Methods ..... 95
- 2.2.5 Results..... 98
  - 2.2.5.1 Lack of diel variations in major lake water parameters, nutrients, trace elements and bacteria..... 98
  - 2.2.5.2 Dissolved CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> and emission flux of CO<sub>2</sub> ..... 102
- 2.2.6 Discussion ..... 104
  - 2.2.6.1 High stability of pH, nutrients, organic acids and dissolved (< 0.45 µm) components of thermokarst lakes ..... 104
  - 2.2.6.2 Diurnal pattern of CO<sub>2</sub> concentration and flux ..... 107
  - 2.2.6.3 Consequences for global CO<sub>2</sub> emission, and C and metal pools assessment in thermokarst lakes of Western Siberia Lowland ..... 108
- 2.2.7 Conclusion ..... 110
- 2.2.8 Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse..... 110

### **CHAPITRE 3**

#### **DISSOLVED ORGANIC MATTER BIODEGRADATION ALONG A HYDROLOGICAL CONTINUUM IN PERMAFROST PEATLANDS .....113**

<b>3.1</b>	<b>Résumé graphique / Graphical abstract.....</b>	<b>114</b>
<b>3.2</b>	<b>Aperçu en français de l'article .....</b>	<b>115</b>
3.2.1	Résumé .....	115
3.2.2	Conclusion .....	116
<b>3.3</b>	<b>Abstract .....</b>	<b>117</b>
<b>3.4</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>118</b>
<b>3.5</b>	<b>Materials and methods.....</b>	<b>120</b>
3.5.1	Geographical, climatic and hydrological setting of sampling sites.....	120
3.5.2	Experimental setup.....	122
3.5.3	Analyses .....	122
3.5.4	Data treatment .....	123
<b>3.6</b>	<b>Results .....</b>	<b>123</b>
3.6.1	Inorganic water chemistry at the beginning of incubation .....	123
3.6.2	Biodegradation of DOC.....	124
3.6.3	DOM optical properties .....	127
3.6.4	PCA results .....	128
<b>3.7</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>129</b>
3.7.1	Evolution of the DOC removal rate and biodegradability along the hydrological continuum.....	129
3.7.2	Evolution of the DOC quality along the hydrological continuum .....	130
3.7.3	Comparison between the hydrological continuum of Khanymey and Stordalen .....	132
3.7.4	How does CO <sub>2</sub> production from experimental DOC biodegradation relate to field-based fluxes estimates .....	132
<b>3.8</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>135</b>
<b>3.9</b>	<b>Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse.....</b>	<b>136</b>

### **CHAPITRE 4**

#### **IMPACT OF FREEZE-THAW CYCLES ON ORGANIC CARBON AND METALS IN WATERS OF PERMAFROST PEATLANDS .....139**

<b>4.2</b>	<b>Aperçu en français de l'article .....</b>	<b>141</b>
4.2.1	Résumé .....	141
4.2.2	Conclusion .....	142
<b>4.3</b>	<b>Abstract .....</b>	<b>143</b>
<b>4.4</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>144</b>
<b>4.5</b>	<b>Materials and methods.....</b>	<b>145</b>
4.5.1	Substrates origins and use.....	145
4.5.2	Incubation, freeze-thaw cycles and sampling .....	146
4.5.3	Treatment of experimental results.....	147
<b>4.6</b>	<b>Results and Discussion .....</b>	<b>147</b>
4.6.1	Chemical composition of aquatic substrates.....	147



4.6.2	Visual impact of the freezing process on DOM and removal of outliers.....	149
4.6.3	Quantification of freeze-thaw cycles impact on DOC concentration and quality .....	152
4.6.4	Trace element behavior during FTC.....	155
4.6.5	Possible mechanisms of DOC and metal transformation during FTC.....	158
4.6.6	Possible role of FTC in natural environments.....	159
<b>4.7</b>	<b>Conclusions .....</b>	<b>161</b>
<b>4.8</b>	<b>Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse.....</b>	<b>162</b>

## **CHAPITRE 5**

### **BIODEGRADATION DE LA MATIERE ORGANIQUE EN CONDITIONS AEROBIES ET ANAEROBIES.....165**

#### **Introduction.....166**

#### **Section 5.1**

#### **Aerobic release and biodegradation of dissolved organic matter from frozen peat: Effect of temperature and heterotrophic bacteria.....167**

5.1.1	Aperçu de l'article en français .....	168
5.1.1.1	Résumé.....	168
5.1.1.2	Conclusions .....	169
	Abstract .....	170
5.1.2	Introduction .....	171
5.1.3	Material and Methods .....	172
5.1.4.1	Bacteria and substrate: origins and use .....	172
5.1.4.2	Experimental setup .....	173
a.	Incubations.....	173
b.	Sampling and chemical analyses.....	174
c.	Microbiological analyses.....	175
5.1.4.3	Transmission Electron Microscopy (TEM).....	176
5.1.4.4	Treatment of experimental results and statistics .....	176
5.1.4	Results.....	177
5.1.5.1	DOC behaviour .....	178
5.1.5.2	Organic acids and inorganic anions behaviour in SFP incubations .....	182
5.1.5.3	Bacterial cell number and Ecoplate analyses of microbial functional diversity in the SFP incubations .....	182
5.1.5.4	TEM observations of incubated peat .....	185
5.1.5	Discussion .....	186
5.1.6.1	DOC trend during peat leaching and biodegradation .....	186
a.	DOC release from frozen peat at different temperatures .....	188
b.	DOC removal during biodegradation of peat leachate .....	189
5.1.6.2	Heterotrophic bacteria functional diversity, microbial cell number and organic acids in the presence of frozen peat and frozen peat leachate ....	190
5.1.6.3	Microscopic morphological features of reacted peat .....	192
a.	General structure of peat.....	192
b.	Peat degradation features revealed by TEM .....	192
5.1.6	Conclusions.....	193
5.1.7	Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse.....	195

## Section 5.2

### Biodégradation anaérobie d'un profil de sol provenant d'une tourbière à pergélisol discontinu

<b>(Sibérie occidentale).....</b>	<b>201</b>
5.2.1 Contexte de l'expérimentation.....	202
5.2.2 Résumé de l'expérience.....	203
5.2.3 Résultat et discussion préliminaire de l'expérience .....	204
5.2.4 Conclusion préliminaire et perspectives .....	213

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....217**

## **LISTE DES FIGURES.....225**

## **LISTE DES TABLEAUX .....231**

## **BIBLIOGRAPHIE .....233**

## **ANNEXES .....269**

### **Tableaux .....269**

    Chapitre 2 ..... 269

    Chapitre 3 ..... 271

    Chapitre 4 ..... 275

    Chapitre 5 ..... 282

### **Figures .....287**

    Chapitre 1 ..... 287

    Chapitre 2 ..... 288

    Chapitre 3 ..... 294

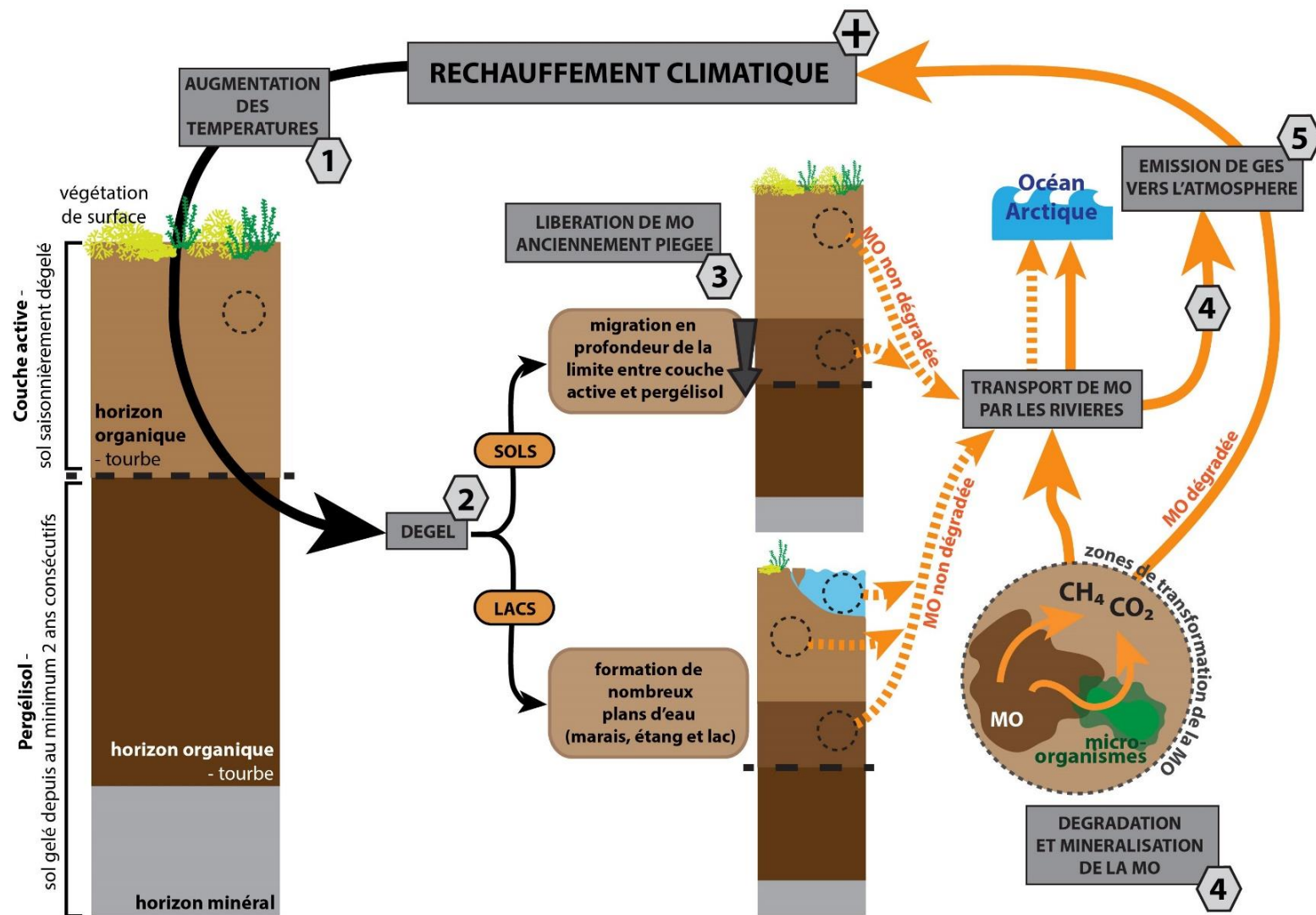
    Chapitre 4 ..... 297

    Chapitre 5 ..... 308

# ***Introduction générale***

L'accélération du réchauffement climatique actuel est certainement l'un des sujets les plus discutés, voire même encore débattu, de nos jours. Les conséquences de ce réchauffement sur l'environnement sont nombreuses : montée du niveau des océans, blanchiment des coraux, disparition d'espèces, sécheresse, réchauffement et acidification des océans, ouragans et bien d'autres. Mais il est des régions qui subissent un impact amplifié de ce réchauffement, notamment les régions arctiques. Actuellement, la température moyenne de l'air par décennies augmente 2 fois plus vite dans ces zones que dans d'autres régions du monde, c'est ce que l'on appelle l'« amplification arctique » ([Overland and Wang, 2013](#); [Serreze et al., 2009](#)).

Les sols des régions arctiques sont composés de 2 couches : la couche active (couche du sol qui gel et dégel avec les saisons) et le pergélisol (couche gelée pendant plus de 2 ans consécutifs). Cette dernière couche contient, dans les régions de tourbières arctiques de grandes quantités de matière organique (MO) renfermant du carbone ([Hugelius et al., 2014](#) ; [Schuur et al., 2015](#)). L'augmentation des températures dans ces régions a plusieurs effets sur le C du pergélisol (**Figure 0 - 1**). Actuellement, l'augmentation des températures dans ces régions entraîne la libération de MO anciennement piégée dans le pergélisol, par le biais de *i*) l'augmentation de la profondeur de la couche active, et donc la migration en profondeur de la limite entre couche active et pergélisol et de *ii*) la formation de nombreux plans d'eau tels que des marais, des étangs et des lacs thermokarstiques. Ces zones nouvellement créées/dégelées peuvent être la source de MO non dégradée transitant vers l'océan Arctique *via* les ruisseaux et rivières qui drainent ces tourbières. De plus, elles sont le lieu de la dégradation et de la minéralisation aérobie et anaérobie de la MO. En résulte la production et l'émission de gaz à effet de serre (GES) tels que le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et le méthane (CH<sub>4</sub>) qui ont un potentiel de réchauffement climatique important et peuvent avoir un effet de rétroaction positive sur l'augmentation des températures atmosphériques globales. Ainsi, l'augmentation actuelle des températures entraîne un transfert du C entre les différents grands réservoirs de C de ces régions, *i.e.* entre la pédo-, la bio-, la cryo-, l'hydro- et l'atmosphère.



**Figure 0 - 1 :** Schéma de la rétroaction positive pouvant être engendrée par le dégel du pergélisol et la dégradation de la MO sur le réchauffement climatique. Ce schéma résume les 5 étapes de cette rétroaction (indiquées par les hexagones gris). Les flèches orange indiquent le devenir de la MO non dégradée (trait en pointillés) et dégradée (trait plein).

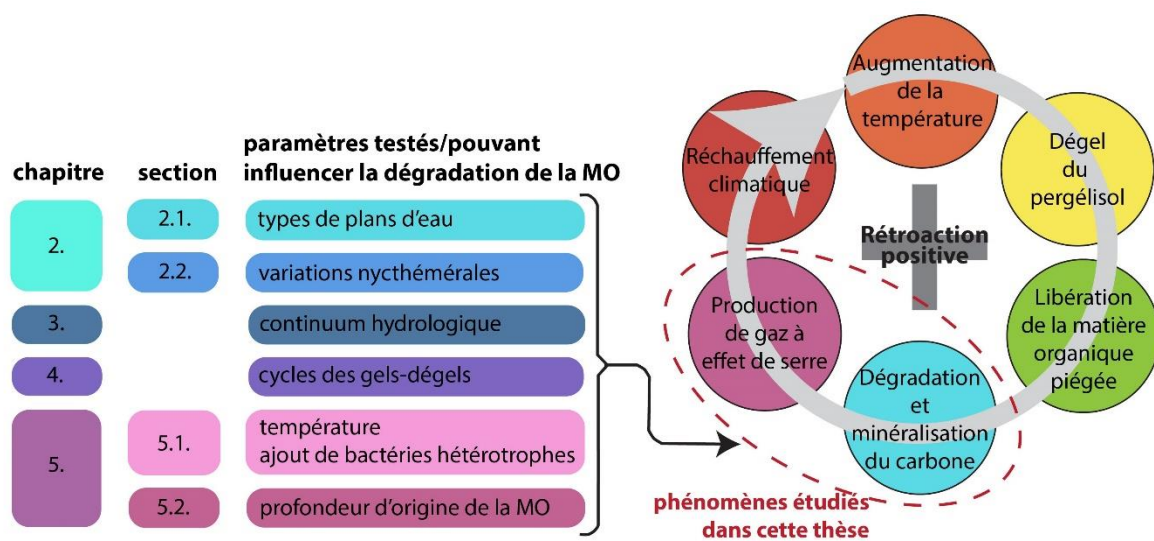
C'est principalement face à ce phénomène d'amplification arctique et en connaissance du potentiel de rétroaction positive des tourbières arctiques sur le climat que de nos jours le nombre d'études sur le devenir de la MO de ces régions se multiplie. Et néanmoins, malgré le fort intérêt actuel des scientifiques pour ce sujet, il reste encore des lacunes dans la connaissance de la dégradation de la MO des régions nordiques (condition de dégradation aérobie et anaérobie ; flux de gaz à effet de serre ; communauté microbienne : bactérie et archée ; température optimale ; caractérisation de la MO etc.). Connaître l'impact de cette dégradation est crucial pour l'élaboration des modèles de prédiction du climat. Ces modèles servent par la suite de base à la compréhension du changement climatique global et à la prise de décisions concernant les mesures à adopter face à ce bouleversement (Abram et al., 2019; IPCC, 2018). Ainsi, la mise en place de systèmes agissant directement sur les productions de GES dans les régions concernées, ou bien de manière plus globale par le captage et le stockage du carbone, par exemple, pourraient permettre de réduire, voire de compenser le bilan de ces émissions. Mais avant de penser à la résolution d'un problème, il est nécessaire de mieux comprendre ce dernier en s'intéressant en particulier à une meilleure compréhension et quantification des phénomènes de transformation de la MO en GES dans les tourbières.

Il existe diverses façons de dégrader la matière organique complexe de la tourbe en molécule carbonée simple dans les régions arctiques : *i*) par l'intervention de micro-organismes, c'est la biodégradation (Hansen et al., 2016 ; Hulatt et al., 2014 ; Shirokova et al., 2019 ; Young et al., 2005), *ii*) par l'action des photons émis par le soleil, c'est la photodégradation (Doane, 2017 ; Laurion and Mladenov, 2013 ; Oleinikova et al., 2017a ; Porcal et al., 2015 ; Shiller et al., 2006) et *iii*) *via* le gel et dégel de cette MO, c'est la cryodégradation (DeLuca et al., 1992 ; Pokrovsky et al., 2018 ; Ren and Vanapalli, 2020 ; Xiao et al., 2019). Différents paramètres sont connus pour influencer, directement ou indirectement, les processus de dégradation de la MO : la température (Biasi et al., 2005; Boddy et al., 2008; Bracho et al., 2016; Chapman and Thurlow, 1998), les saisons et la présence de neige et/ou de gel (Bussmann et al., 2020; Elder et al., 2019; Holmes et al., 2012; Krickov et al., 2019; Manasyov et al., 2015), l'origine et la composition de la MO (Elder et al., 2018 ; Young et al., 2005), la composition de la communauté microbienne (Feng et al., 2020; Vigneron et al., 2019; Ward et al., 2017) etc. Compte tenu de la grande variabilité de ces paramètres, il semble important et nécessaire de multiplier les études sur ces processus de dégradation de la MO. Mais un sujet d'une ampleur telle que celle-ci nécessiterait bien plus

que les 3 ans alloués à cette thèse. Il a donc été décidé de restreindre le champ de cette étude à la biodégradation et la cryodégradation de la matière organique (pas d'étude de la photodégradation) et au carbone organique dissous (issu de la lixiviation des sols et de la végétation) sans aborder le carbone organique particulaire ni le carbone inorganique. Par ailleurs, nous n'avons pas abordé les autres cycles d'éléments tels que l'azote, le phosphore ou le soufre. Enfin, les températures étudiées correspondent aux températures observées sur le terrain du début du printemps à la fin de l'automne (*i.e.* pas d'étude de la saison hivernale). Dans la limite de ces restrictions, cette thèse tente donc de répondre à la question suivante : « Quels sont les facteurs influençant la biogéochimie du carbone dans les tourbières à pergélisol riche en matière organique ? ».

Afin de répondre correctement à cette question il est dans un premier temps nécessaire de poser les bases sur lesquelles s'appuient ce sujet de thèse. La **section 1.1** du **chapitre 1** est dédiée à la description du contexte général du carbone dans les tourbières nordiques, aux constats fait sur le réchauffement climatique dans ces régions et à des précisions terminologiques utiles à la compréhension de la suite du manuscrit. De manière plus pratique, afin de répondre à la problématique de la thèse, diverses combinaisons d'analyses biogéochimiques variées ont été utilisées, à la fois lors des missions de terrain et en laboratoire, permettant de lier les différentes disciplines contrôlant la dégradation de la MO dans un environnement naturel (la microbiologie et la géochimie). Ces analyses et expérimentations sont détaillées dans le **chapitre 1 (section 1.2)**. Le point fort de cette thèse réside dans l'utilisation d'analyses et d'expériences variées, dont les protocoles sont bien établis par des études antérieures, sur 3 sites d'étude d'Europe et d'Asie : au nord de la Suède, en Russie européenne et en Sibérie occidentale. Ces sites sont décrits dans le **chapitre 2 (section 2.1)**. Deux missions de terrains se sont succédées durant l'année 2018, en Sibérie occidentale et au Nord de la Suède (**Figure 0 - 2**). Durant ces missions, la grande variabilité des plans d'eau existant sur le terrain et leurs influences sur la répartition des concentrations en carbone et en métaux traces dissous ont été étudiées (**chapitre 2, section 2.1**). De plus, une expérience menée directement sur le terrain a permis de mettre en évidence l'influence du cycle jour/nuit sur le cycle du carbone, les nutriments et les métaux en traces dans les eaux de deux lacs thermokarstiques (**chapitre 2, section 2.2**). Différentes expériences en laboratoire ont été réalisées durant cette thèse. Ces expériences de dégradation ont permis (**Figure 0 - 2**) : *i*) d'observer l'impact de l'éloignement à la source de la matière organique sur

la biodégradabilité et la vitesse de dégradation des eaux de deux continuums hydrologiques, l'un situé en Sibérie occidentale et l'autre au Nord de la Suède (**chapitre 3**) ; *ii*) d'observer l'influence de la succession de cycles de gel-dégel sur le carbone organique dissous et les métaux en traces provenant de la tourbe, de la végétation et de différentes eaux naturelles des régions arctiques de la Russie Européenne (**chapitre 4**) ; *iii*) d'étudier l'effet de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes sur la biodégradation aérobie du carbone organique dissous issu de la tourbe de la Russie européenne (**chapitre 5, section 5.1**) ; et finalement *iv*) d'avoir un aperçu du potentiel de production de GES d'un profil de sol provenant de la Sibérie occidentale, durant 7 mois consécutifs (**chapitre 5, section 5.2**).



**Figure 0 - 2 :** Schéma des paramètres étudiés dans les différents chapitres de cette thèse, pouvant influencer le cycle de rétroaction positive de la dégradation de la matière organique sur le climat, dans les régions de tourbières arctiques.



# ***Chapitre 1***

***Contexte, terminologie,  
matériels et méthodes***

# ***Introduction***

Afin de poser les bases de cette étude, ce chapitre présente 2 grandes sections :

La première (***section 1.1***) traite du contexte général du carbone dans les régions nordiques ainsi que des terminologies spécifiques à ce sujet. En effet, avant d'aborder la suite de cette thèse et afin de mieux comprendre les enjeux liés au réchauffement climatique sur ces régions, il est nécessaire de replacer les grands concepts de cette thèse en abordant successivement le sujet *i*) des régions de tourbières nordiques et de leurs spécificités géographiques, de composition de sol et de végétation (***sous-section 1.1.1***) ; puis *ii*) du carbone dans ces régions (sa distribution dans les sols et les eaux ainsi que son utilisation), ***sous-section 1.1.2***); et finalement *iii*) celui de la perturbation globale actuelle qui a donné lieu à ce sujet de thèse : le réchauffement climatique (***sous-section 1.1.3***) de ces régions.

La deuxième section aborde le sujet des méthodes et du matériel utilisés lors de cette thèse (***section 1.2***). Il a été choisi de décrire de manière plus détaillée les techniques d'échantillonnages utilisées sur le terrain (***sous-section 1.2.1***), les mesures faites *in situ* (***sous-section 1.2.2***) et les expériences menées en laboratoire (***sous-section 1.2.3***). De plus, une sous-partie (***sous-section 1.2.4***) traite des différentes analyses et traitements des données réalisés à la fois pour les échantillons collectés sur le terrain et ceux provenant d'expériences en laboratoire. Ces méthodes et techniques d'analyses sont aussi décrites (de manière plus concise) dans les chapitres contenant des articles (publiés, soumis ou en préparation - chapitres 2 à 5). Et finalement, la dernière sous-section (***sous-section 1.2.5***) est dédiée aux analyses statistiques.

Certains concepts, définitions, techniques et analyses présentés dans ce chapitre peuvent être considérés comme des connaissances de base du sujet. Il me semblait cependant important de les aborder car ce chapitre a aussi pour but de servir aux prochains étudiants (stagiaires de licence, de master ou encore doctorants), qui comme moi, abordent un sujet mélangeant biologie, géologie et chimie, à la suite d'un parcours de formation académique généralement mono-disciplinaire.

## ***Section 1.1***

### ***Contexte et terminologie***

## **1.1.1 Les tourbières en région nordique**

### **1.1.1.1 Zones humides et tourbières**

Les zones humides sont des zones définies, par la convention de Ramsar de 1971, comme « toutes zones de marais, marécages, tourbières, naturelles ou artificielles, permanentes ou temporaires, dont l'eau est statique ou courante, douce, saumâtre ou salée ». Ces zones sont très répandues à toutes les latitudes sur Terre et elles ne dépendent que du maintien de leurs fortes quantités d'eaux. Si les zones humides tropicales existent principalement grâce aux fortes précipitations, les zones humides polaires sont des régions à très faibles précipitations. C'est le faible taux d'évaporation aux pôles qui permet le maintien des fortes quantités d'eaux dans les sols et en surface. Parmi ces régions, un type particulier de zone humide est considéré comme stockant une grande quantité de matière organique, ce sont les tourbières.

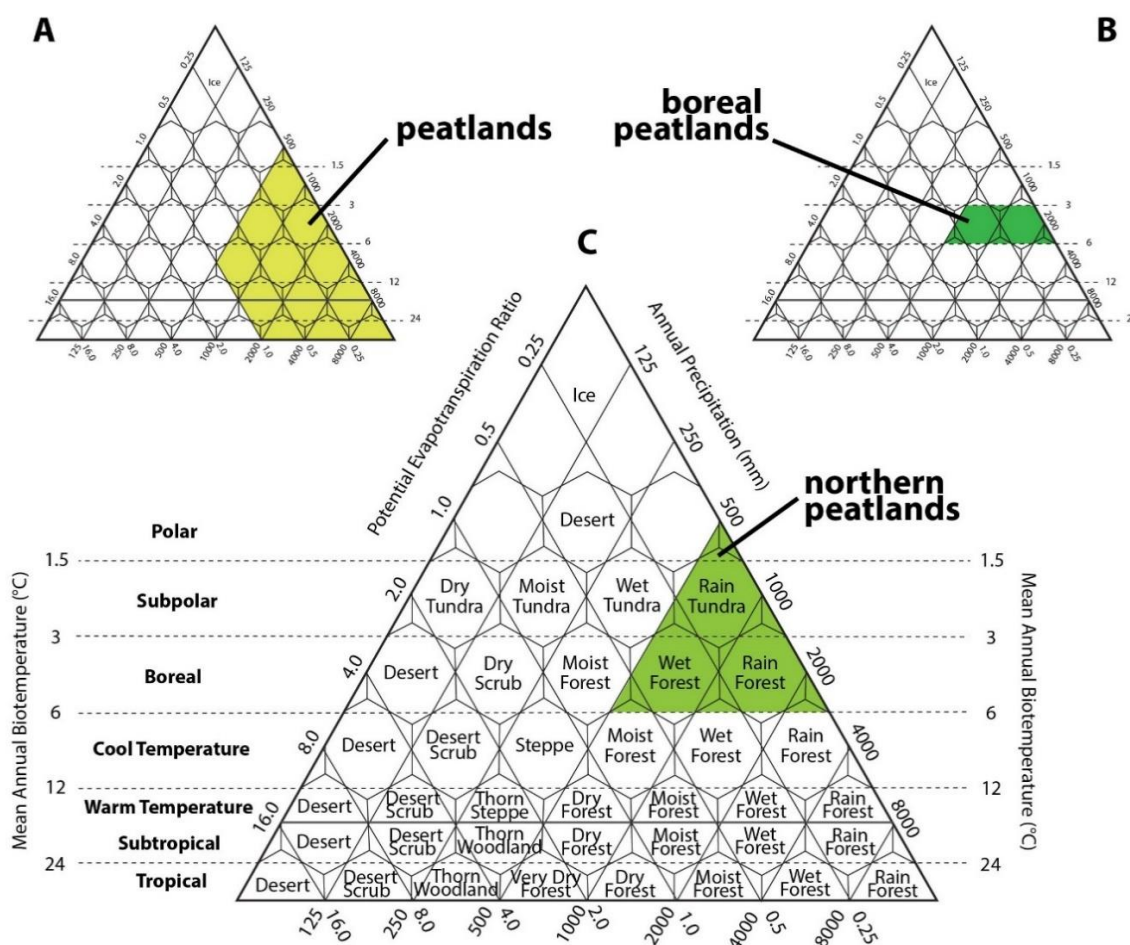
Les tourbières sont des zones terrestres où la production primaire nette excède la décomposition de la matière organique, ce qui engendre une accumulation de matière organique partiellement décomposée, *i.e.* la tourbe. Les tourbières sont réparties à toutes les latitudes, mais 80% des tourbières mondiales se situent en régions boréales et elles représentent 3% de la surface de la Terre (Joosten and Clarke, 2002).

Il faut noter qu'en français le terme « tourbière » englobe à la fois la zone produisant activement de la tourbe (*i.e.* zone avec couvert végétal) et la zone possédant un horizon de sol, en surface, qui est riche en tourbe, mais qui actuellement ne produit plus de tourbe. En anglais, le terme « peatland » indique uniquement la présence d'horizon tourbeux à la surface des sols (avec ou sans végétation) alors que le terme « mire » implique que la zone produit activement de la tourbe (Joosten and Clarke, 2002). Dans la suite de ce manuscrit et particulièrement dans les sections rédigées en anglais (articles publiés ou soumis) les termes de « peatland » et « mire » sont utilisés comme étant des synonymes, bien que toutes les tourbières étudiées produisent activement de la tourbe.

### **1.1.1.2 Tourbières en zone boréale, subarctique et arctique**

Les régions « nordiques » peuvent être divisées en 3, des basses aux hautes latitudes : la zone boréale, la zone subarctique et la zone arctique. Les limites de ces zones ont plusieurs origines, elles dépendent à la fois de la géographie (latitude, qui est le critère le plus connu), du type de végétation, de la température moyenne annuelle, du taux de précipitation et

d'évapotranspiration annuel des régions. Afin de délimiter la distribution climatique mondiale des écosystèmes de tourbières boréales, [Wieder et al. \(2006\)](#) propose une adaptation du diagramme ternaire de [Hartshorn \(1988\)](#) (**Figure 1 - A**) de la distribution des tourbières mondiales et de celui de [Gignac and Vitt \(1994\)](#) (**Figure 1 - B**) concernant les tourbières boréales. Ces diagrammes présentent la distribution des types de végétation en fonction des différentes conditions climatiques (latitude, végétation, précipitations, température, etc.). Dans ce manuscrit, les sites d'étude présentés (**chapitre 2, sous-section 2.1.1**) sont situés plus au nord de la zone boréale. Nous proposons donc le diagramme suivant (**Figure 1 - C**) qui indique que les zones de tourbières nordiques actives peuvent se localiser dans des zones ayant une précipitation moyenne annuelle comprise entre 500 et 3000 mm, où le rapport d'évapotranspiration potentiel est entre 0,125 et 0,800 et où la bio-température est comprise entre 1,13 °C et 6 °C (défini par [Holdridge \(1947\)](#) comme étant la température moyenne annuelle calculée en remettant à 0 °C toutes les températures < 0 °C).



**Figure 1 - 1:** Diagramme ternaire délimitant les distributions climatiques des écosystèmes de tourbières (A) mondiales ([Hartshorn, 1988](#)) ; (B) boréales ([Wieder et al., 2006](#)) et (C) nordiques (adapté de [Wieder et al., 2006](#)).

### **1.1.1.3 Les sols et composition de la tourbe**

Les sols de tourbières possèdent un horizon organique, contenant la tourbe, et un horizon minéral sous-jacent. L'épaisseur de l'horizon organique dans les tourbières actives varie. En Amérique du Nord et en Russie la tourbe est présente sur une profondeur de plus de 40 et 30 cm, respectivement (Tarnocai and Stolbovoy, 2006). Néanmoins, ces valeurs peuvent fortement varier localement. Les sites étudiés pour cette thèse présentent des horizons tourbeux allant de 50 cm en Suède jusqu'à 1 m voir 1,50 m localement en Sibérie occidentale. L'horizon organique des tourbières est très souvent constitué de 2 couches *i)* une couche supérieure contenant de l'oxygène, à forte conductivité hydraulique et où le taux de décomposition est élevé, c'est l'acrotelme ; et *ii)* une couche inférieure majoritairement privée d'oxygène, à faible conductivité hydraulique et faible taux de décomposition, c'est le catotelme (Clymo and Fogg, 1984; Ingram, 1978). La frontière entre ces deux couches est située approximativement à la profondeur moyenne du niveau hydrostatique minimum d'été, soit à peu près entre 10 et 50 cm de profondeur (Clymo and Fogg, 1984; Ivanov, 1981) mais peut varier en fonction de la tourbière et de la microtopographie du lieu.

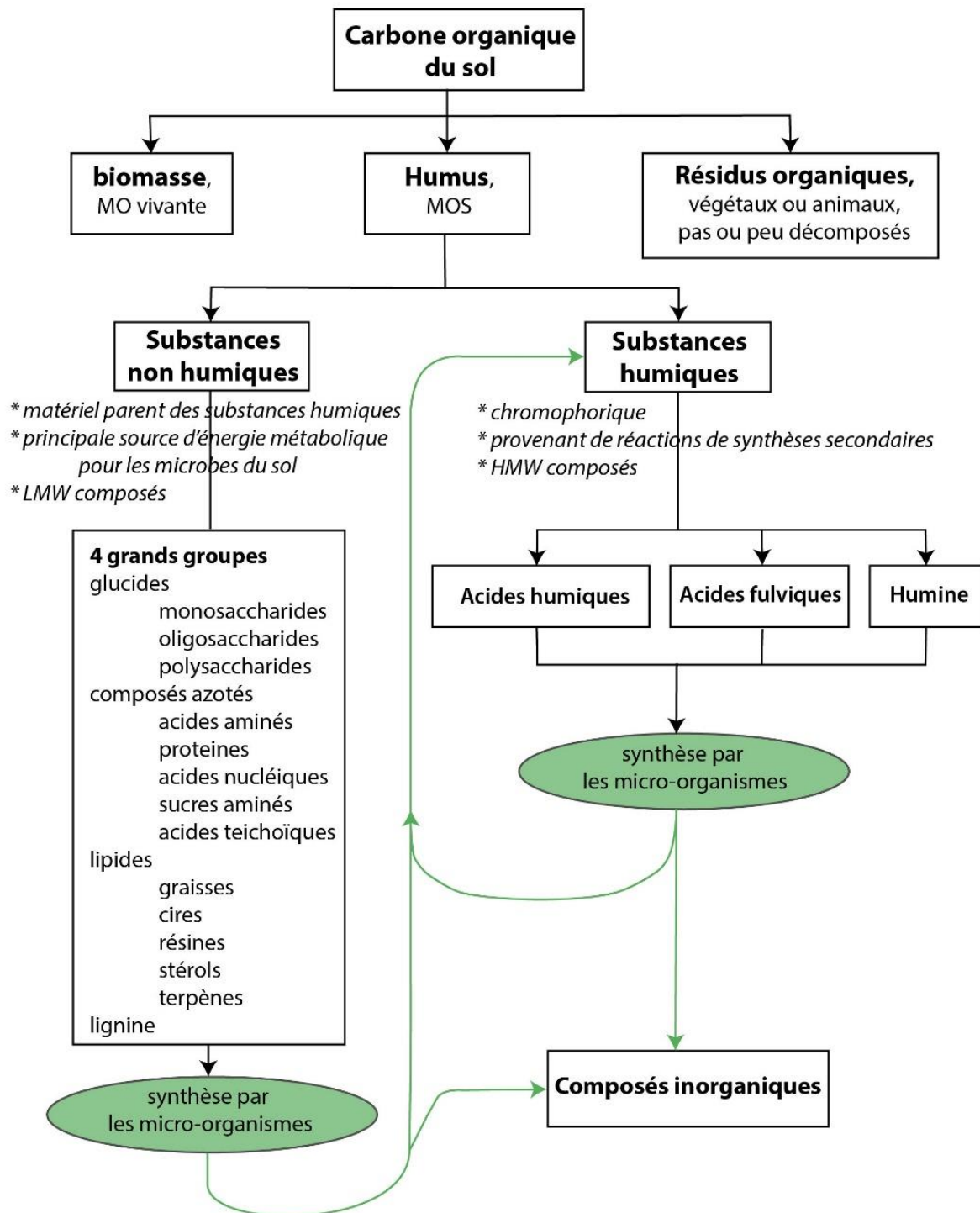
Si l'horizon organique des tourbières contient une grande quantité de matière organique peu décomposée, l'horizon minéral peut représenter jusque 5% non comptabilisé du bilan de carbone mondial (Turunen et al., 1999). De nos jours, 302 pétagramme (Pg) de carbone sont stockés dans les horizons organiques des tourbières boréales et sub-boréales (Hugelius et al., 2014). Ce qui veut dire que ces tourbes représentent globalement un tiers du carbone des sols mondiaux (Turunen et al., 1999). C'est aussi 2 fois la quantité du carbone contenu dans l'atmosphère (Huissteden, 2020).

La tourbe est par définition un sol constitué de matière organique (MO) végétale peu décomposée, et particulièrement de carbone qui constitue 45 à 50% de la tourbe (Clymo et al., 1998; Clymo and Fogg, 1984). Le carbone organique dans les sols provient de *i)* la biomasse qui constitue la MO vivante du sol ; *ii)* des résidus organiques, tissus végétaux et animaux non ou partiellement dégradés et *iii)* de l'humus, aussi appelé matière organique du sol (MOS) (Figure 1 - 2). L'humus est constitué de substances non humiques et de substances humiques. Les substances non humiques contiennent souvent des composés à faible poids moléculaire (LMW, Low Molecular Weight) qui sont des biomolécules nécessaires à la fonction, la structure et la reproduction des organismes vivants. On peut classer en 4 grands groupes les substances

non humiques : les glucides, les composés azotés, les lipides et les lignines (et autres substances réfractaires). Les substances non humiques sont la principale source d'énergie métabolique des microbes du sol et le matériel « parent » des substances humiques. En effet, elles constituent les briques de construction des substances humiques sous l'action des microorganismes. Les substances humiques sont définies par [MacCarthy \(2001\)](#) comme étant des composés extraordinairement complexes, des mélanges amorphes et très hétérogènes de molécules à la fois chimiquement réactives et réfractaires ayant un rôle clé dans le système écologique de la Terre. Ces substances sont produites durant la diagénèse précoce de la décomposition de la MO. Elles sont formées de manière ubiquiste dans l'environnement *i) via* des processus impliquant des réactions chimiques d'espèces aléatoirement « choisies » dans un réservoir de molécules diverses et *ii) à* travers l'altération chimique aléatoire de molécules précurseurs. Trois fractions composent les substances humiques : les acides humiques, les acides fulviques et l'humine, toutes trois définies par leur solubilités dans des solutions acides et alcalines (cf. [Essington \(2015\)](#) pour plus d'information sur les techniques d'extraction de ces fractions). L'utilisation par des microorganismes des substances humiques et non humiques permet la formation de nouveaux composés inorganiques (**Figure 1 - 2**).

#### ***1.1.1.4 Végétation des tourbières Arctiques***

Si la végétation des régions nordiques peut être le lieu de la croissance d'arbres dans les zones dites de « taïga », les sites étudiés dans cette thèse sont des zones de toundra et/ou de palses et se situent donc au Nord de la limite des arbres. Nous nous attarderons ainsi à décrire la végétation de ces zones qui sont dominées par un climat à influence marine, où les températures d'été sont basses et résultent des arrivées d'air froid venant de l'Océan Arctique. La végétation est dominée par des lichens, des mousses, des herbes et des arbustes ([Huissteden, 2020](#)). Des tourbières les plus nordiques en allant vers la limite des arbres au sud, on distingue 5 sub-zones définies par la végétation ([Huissteden, 2020](#)) (avec un enrichissement en plantes vasculaires du Nord au Sud) décrites dans le **Tableau 1-1** ci-dessous.



**Figure 1 - 2 :** Schéma de la composition générale de la MO des sols et de l'influence des micro-organismes (adapté de [Essington \(2015\)](#)). Abréviations françaises : « MO » = Matière Organique ; MOS = Matière Organique du Sol ; abréviations anglaises : « LMW » = Low Molecular Weight ; « HMW » = High Molecular Weight. Les encadrés et flèches vertes indiquent l'utilisation de la MO par des micro-organismes.



**Tableau 1 - 1:** Caractéristiques des 5 sub-zones définies par la végétation au Nord de la limite des arbres (d'après Huissteden (2020)). \* températures déduites des données présentées par Huissteden (2020).

Sub-zones	Nord		<-->		Sud
	A	B	C	D	E
Température moyenne d'été ( °C)	2-3	4-9*	10	10	12
Taille de la végétation	nulle - faible	< 10 cm	≤ 15 cm	≤ 40 cm	≤ 80 cm
Continuité de la végétation	végétation quasi-absente ou déterminée par la microtopographie	végétation en patch	couvert de mousses et de lichens plus continu et présence d'arbustes nains et d'herbacés	couvert de mousses et de lichens plus continu et présence d'arbustes nains et d'herbacés + couvert de plantes vasculaire plus important	végétation continue
Biomasse	< 3 t ha <sup>-1</sup>	5-20 t ha <sup>-1</sup>	10-30 t ha <sup>-1</sup>	30-60 t ha <sup>-1</sup>	50-100 t ha <sup>-1</sup>
Production annuelle nette	< 0,3 t ha <sup>-1</sup>	0,2-1,9 t ha <sup>-1</sup>	1,7-2,9 t ha <sup>-1</sup>	2,7-3,9 t ha <sup>-1</sup>	3,3-4,3 t ha <sup>-1</sup>
Couvert végétal					
Plante vasculaire	< 5%	5-50%	5-50%	5-80%	80-100%
Lichen					
Mousse	< 40%	< 60%			
Informations supplémentaires	arbustes absents ; quand la végétation est présente, elle est constituée de cyanobactéries, de lichens, de mousses, d'herbes éparses avec une croissance en forme de coussins	strate de lichens, mousses et arbustes nains prostrés	le bouleau <i>Betula nana</i> est typique des zones sèches; les zones humides contiennent des espèces tels que <i>Carex</i> et <i>Eriophorum</i> et la sphaigne est une mousse qui compose la tourbe (formée et en formation)		

Les tourbières sont classées depuis les années 50 selon la tolérance de leurs végétations au pH (Du Rietz, 1954). Il est courant de classer les tourbières à végétation dominée par les sphaignes comme étant des tourbières acides, et pauvres en diversité nommées « tourbières pauvres », tandis que les tourbières dont la végétation est dominée par les mousses « brunes » ont très souvent un pH neutre voir basique, et sont nommées « tourbières riches ». Cette division, faite sur la composition du niveau des mousses et lichens, doit être selon plusieurs auteurs le critère de base de classification des tourbières (Gorham and Janssens, 1992; Vitt et al., 2000; Wheeler and Proctor, 2000). Cependant, il faut noter qu'il existe des tourbières dites riches avec une forte abondance de sphaigne et que ces tourbières atypiques doivent être classées différemment (Wieder et al., 2006).

La végétation de base des tourbières nordiques se compose de sphaigne, de lichens, de mousses et d'arbustes (Walker et al., 2005). Plusieurs espèces caractéristiques des tourbières se développent sans distinction sur les 3 continents nordiques (Amérique du Nord, Europe et Asie), tels que *Chamaedaphne calyculata*, *Ledum palustre*, et plusieurs espèces de *Vaccinium*, incluant *V. oxycoccos* et *V. vitis idaea*; et *Rubus chamaemorus* (Wieder et al., 2006). A l'inverse, si l'espèce *Betula* est largement présente en Amérique du Nord, Europe et Asie, *Betula pubescens* est caractéristique de la Sibérie, alors que *B. glandulosa* et *B. glandulifera* sont caractéristiques de l'Amérique du Nord. Concernant les arbustes nains, *Ledum groenlandicum* est endémique de l'Amérique du Nord, alors que *Calluna vulgaris* et *Erica tetralix* sont endémiques de l'Eurasie (Wieder et al., 2006).

Le couvert végétal dans les régions de pergélisol interagit fortement par échange de chaleur avec les sols gelés (McGuire et al., 2002; Péwé and Brown, 1973). La végétation est adaptée à un air froid et au climat du sol, mais elle influence aussi son environnement en isolant/ou non le sol des températures extérieures (*i.e.* vague de chaleur ou de froid). Les mousses dans les tourbières sont en particulier un bon isolant (Huissteden, 2020). Toutes perturbations de ce couvert végétal « protecteur » par des processus d'érosions naturels ou humain, initient le processus de dégel du pergélisol sous-jacent (Nauta et al., 2015).

### 1.1.1.5 Pergélisol

#### a. Pergélisol et matière organique stockée

Le pergélisol est par définition un sol (minéral ou organique) gelé dont la température est égale ou inférieure à 0 °C pendant au minimum 2 ans consécutifs (Abram et al., 2019). Il existe plusieurs types de pergélisols souvent répartis selon un gradient latitudinal, des hautes aux basses latitudes : le pergélisol *i*) continu, *ii*) discontinu, *iii*) sporadique et *iv*) isolé (Schuur et al., 2008) (Figure 1 - 3). Ils sont définis en fonction de la continuité géographique du pergélisol. A ces 4 types de pergélisol s'ajoute un 5<sup>ème</sup> type, dont la proportion en glace pure contenue dans le pergélisol excède celle des autres types : c'est le pergélisol riche en glace. Dans les zones de pergélisols continus, discontinus, sporadiques et isolés on distingue la couche active, (couche située en surface du sol et qui gèle et dégel avec les saisons, Figure 1 - 4) des zones de « taliks ». Les taliks sont des couches de sols dégelées durant toute l'année, situées en zone de pergélisol. Il en existe plusieurs types, définis en fonction de leurs formes et connexion avec la surface du sol (talik fermé, renversant et ouvert) (Figure 1 - 4).

D'après les estimations de Tarnocai and Stolbovoy (2006), les tourbières nordiques à pergélisol et sans pergélisol couvrent  $4543 \times 10^3 \text{ km}^2$ , dont 66% en Eurasie et 34 % en Amérique du Nord. Approximativement 60% de ces tourbières ( $2718 \times 10^3 \text{ km}^2$ ) sont gelées de façon pérennes avec  $2152 \times 10^3 \text{ km}^2$  en Eurasie et  $565 \times 10^3 \text{ km}^2$  en Amérique du Nord. Selon le dernier rapport spécial de l'IPCC 2019, concernant les effets du changement climatique sur l'océan et la cryosphère, la meilleure estimation du carbone organique stocké dans le pergélisol (surface et profondeur) des régions circumpolaires Nord (aire totale de  $17,8 \times 10^6 \text{ km}^2$ ) est de 1460 à 1600 Pg (Meredith et al., 2019; Schuur et al., 2018).

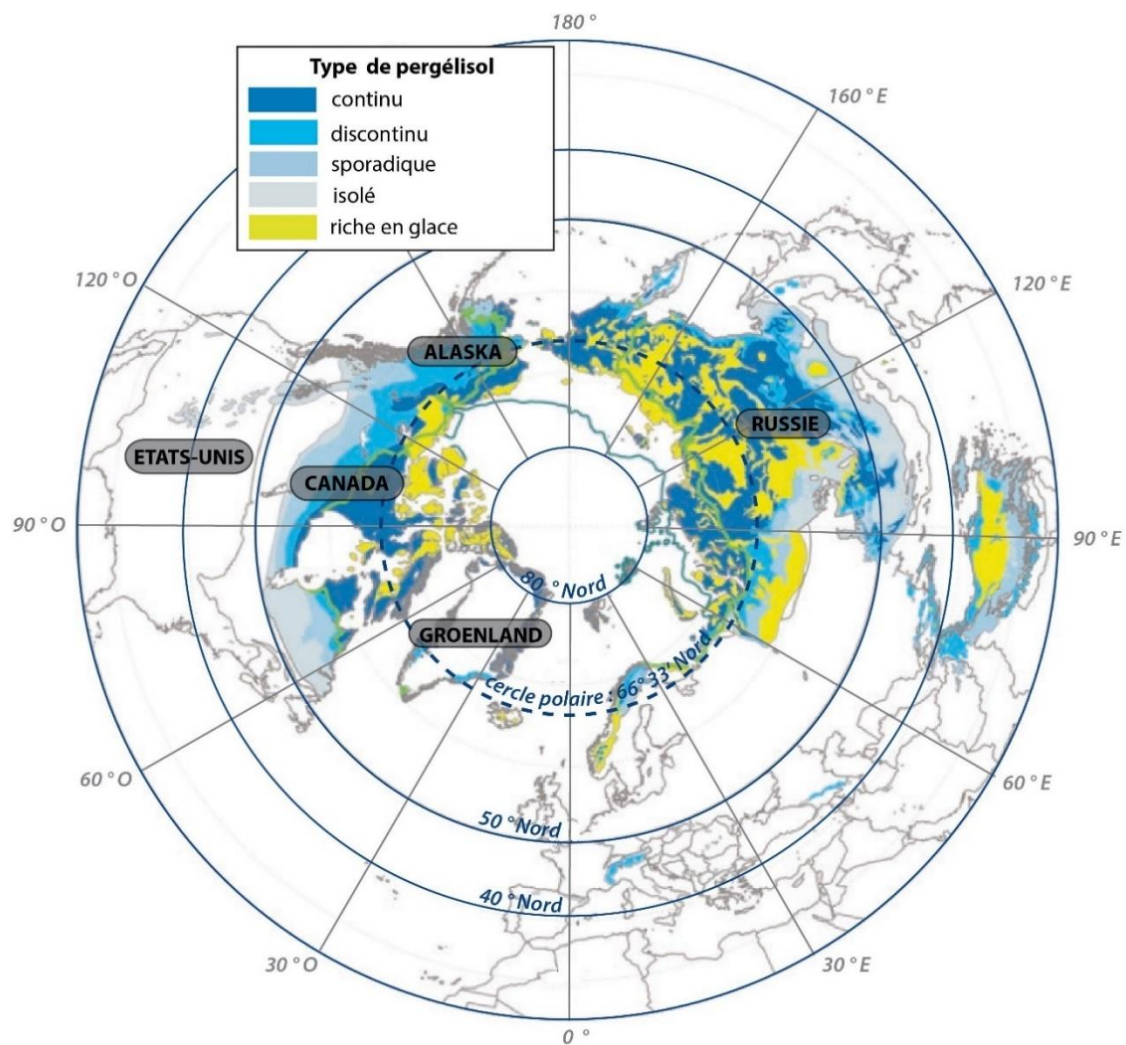


Figure 1 - 3: Répartition des différents types de pergélisol sur l'hémisphère Nord. Carte adaptée à partir d'Huissteden (2020).

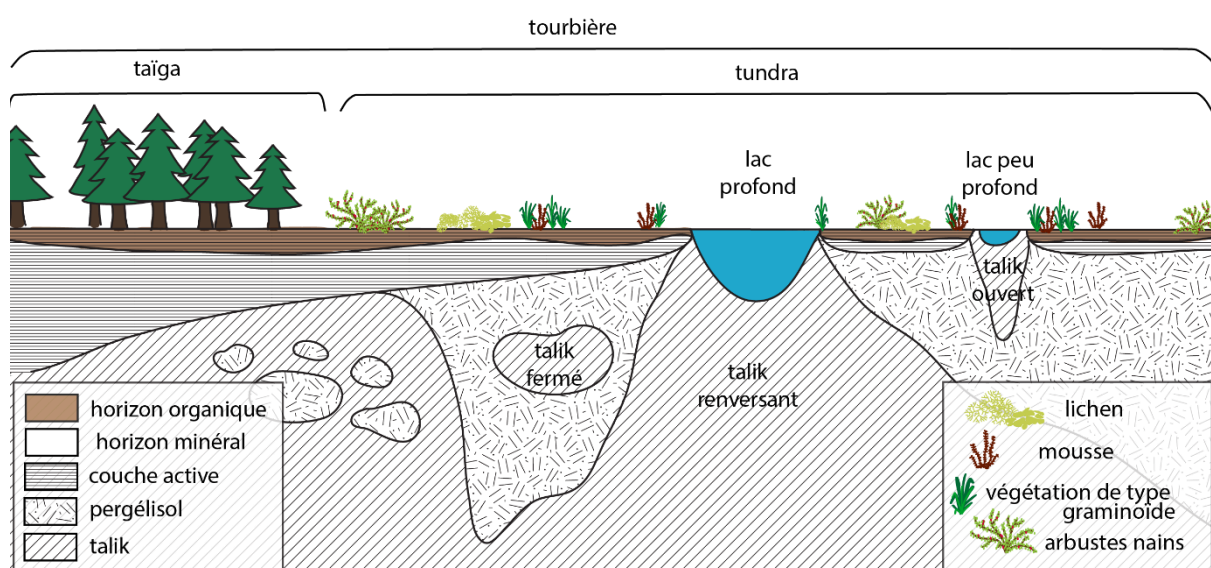


Figure 1 - 4: Schéma d'un sol de tourbière présentant un horizon organique et un horizon minéral, soumis à la présence d'un pergélisol, d'une couche active et de différents types de taliks (modifié d'après Huissteden, 2020).

## ***b. Formation des lacs thermokarstiques***

Le dégel du pergélisol est plus fréquent dans les régions nordiques où la température des sols fluctue autour de 0 °C (Romanovsky et al., 2010) et où le pergélisol est discontinu à sporadique. De plus, la distribution de la glace dans le sol contrôle l'intensité des processus géomorphologiques pouvant se produire durant le dégel du pergélisol (van Huissteden and Dolman, 2012), allant des pulses d'érosions massifs, abrupts et catastrophiques à des perturbations plus graduelles et lentes (Grosse et al., 2011). Durant cette thèse nous ne nous sommes intéressés qu'aux processus graduels qui modèlent le paysage tels que la formation des lacs thermokarstiques qui affectent le cycle du carbone des tourbières nordiques. Le terme de « lac thermokarstique » vient de son processus de formation : le pergélisol de la tourbière dégel sous l'effet des températures élevées (*thermos*) et par « dissolution » du sol anciennement gelé (*karstique*) se forme un lac. La formation de ces lacs semble suivre un cycle (Kirpotin et al., 2009; Pokrovsky et al., 2011), aussi appelé chrono-séquence (Figure 1 - 5). C'est souvent une perturbation (naturelle ou humaine) du couvert végétale qui entraîne le dégel du pergélisol sous-jacent (Nauta et al., 2015), puis la subsidence du sol forme une dépression qui se remplit d'eau de dégel riche en MO à fort poids moléculaire et à pH acide. La taille du point d'eau augmente par subsidence du sol tourbeux et abrasion active des bordures de la dépression (*i.e.* maturation). Cette augmentation de taille s'arrête lorsque les bordures sont stabilisées et que l'étang de dégel a atteint la taille d'un lac. A ce stade, les eaux des lacs sont moins acides et moins riches en MO. De la dépression au lac thermokarstique, il existe une relation de corrélation linéaire entre la taille du point d'eau et les concentrations en carbone organique dissous (Shirokova et al., 2013). Finalement, ce lac peut se drainer dans un lac plus grand à proximité ou bien dans un ruisseau ou une rivière.



**Figure 1 - 5:** Chrono-séquence de la formation de lacs thermokarstiques. Modifié d'après Kirpotin et al. (2009) et Pokrovsky et al. (2011)

## **1.1.2 Cycle du carbone des tourbières nordiques**

De nombreux cycles biogéochimiques sont très importants dans les tourbières nordiques, tels que les cycles de l'azote, du phosphore et du soufre, mais cette thèse n'aborde que celui du carbone (C) dans ces régions.

On distingue plusieurs types de dégradation de la matière organique (MO) : la dégradation par des organismes vivants ou biodégradation (*i.e.* bactéries, champignons, plancton ... ; [Payandi-Rolland et al., 2020a](#); [Shirokova et al., 2019a](#); [Vonk et al., 2015a](#)); la photodégradation : due aux émissions photoniques (soleil ; [Doane, 2017](#); [Laurion and Mladenov, 2013](#); [Oleinikova et al., 2017a](#); [Porcal et al., 2015](#); [Shiller et al., 2006](#)) et la cryodégradation : due au gel (voir au dégel ; [DeLuca et al., 1992](#); [Pokrovsky et al., 2018](#); [Ren and Vanapalli, 2020](#); [Xiao et al., 2019](#)).

### **1.1.2.1 Le carbone dans les sols**

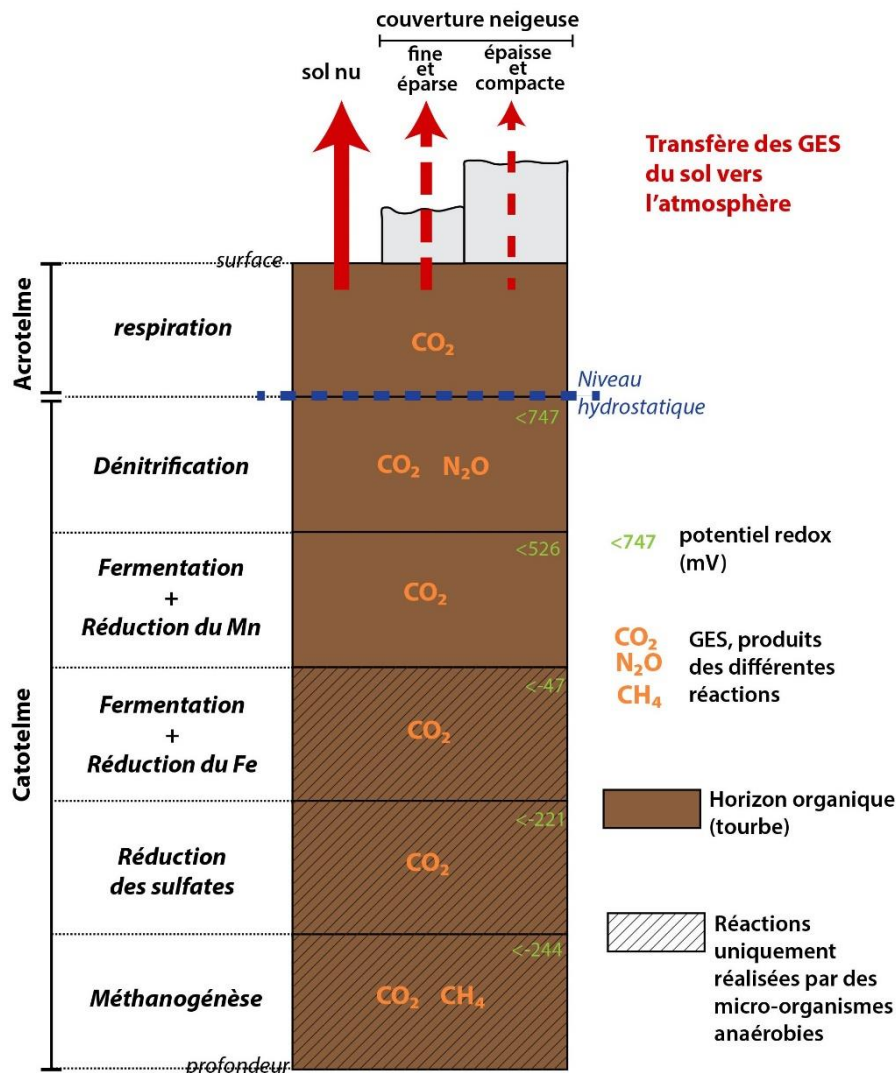
Comme indiqué dans la **partie 1.1.1.3**, les sols tourbeux sont souvent constitués de 2 horizons, un horizon avec et un horizon sans oxygène (acrotelme et catotelme). La présence ou l'absence d'oxygène est un facteur important à tout écosystème car il détermine le type de réactions chimiques et biologiques qui peuvent avoir lieu. Pour désigner un système dans lequel l'oxygène est présent on parle de système aérobie ou de système oxique. À l'inverse, on emploie souvent les termes d'anoxie ou d'anaérobie pour indiquer l'absence d'oxygène d'un système. Il existe cependant une différence notable entre ces deux terminologies. Le terme anoxique/oxique indique simplement l'absence/la présence d'oxygène, alors que le terme anaérobie/aérobie lui, indique l'absence/la présence des accepteurs de protons communs tels que les nitrates, les sulfates et l'oxygène. En science, les termes oxiques et anoxiques renvoient à des réactions purement chimiques d'oxydation. Il est plus courant dans le domaine des sciences du vivant d'utiliser les termes d'anaérobie et d'aérobie afin d'englober les divers processus de transformation du carbone. Dans cette thèse, nous utiliserons donc les termes de conditions aérobies et anaérobies.

La tourbe de l'acrotelme est principalement décomposée par un réseau trophique complexe composé de la faune du sol (invertébrés et protozoaires) et de microbes (bactéries et champignons). La respiration hétérotrophique est largement contrôlée par la température du sol, le volume de la couche de tourbe aérobie, les nutriments et le pH du sol, ainsi que la

quantité et qualité du matériel décomposable (Chapin et al., 2011; Chapman and Thurlow, 1998). Ainsi, l'acrotelme est une source de CO<sub>2</sub> pour l'atmosphère (Figure 1 - 6). A l'inverse, la catotelme est le lieu de la lente décomposition anaérobie. La profondeur de la limite entre l'acrotelme et le catotelme varie en fonction du niveau hydrostatique (Bartsch and Moore, 1985; Clymo et al., 1998; Clymo and Fogg, 1984; Laine and Vasander, 1996; Reader and Stewart, 1972; Scanlon and Moore, 2000) (Figure 1 - 6). Les premiers accepteurs d'électrons alternatifs, après la disparition de l'oxygène du milieu, sont les nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) par la réaction de dénitrification, ce qui produit deux types de gaz à effet de serre (GES) le CO<sub>2</sub> et le N<sub>2</sub>O. Lorsque le potentiel redox diminue, ce sont les réductions successives du Mn<sup>4+</sup> (<526) et du Fe<sup>3+</sup> (<-47) qui jouent le rôle d'accepteurs d'électrons. Ces deux réactions produisent du CO<sub>2</sub>. Alors que la réduction du fer ne peut être réalisée que par des micro-organismes anaérobies, celle du manganèse peut être réalisée par des micro-organismes pouvant réagir en milieu aérobie et anaérobie. La réduction du Fe(III) est une réaction importante de la décomposition de la MO dans les tourbières nordiques, et la forte disponibilité de ce fer concurrence les méthanogènes (Lipson et al., 2010). La réduction des sulfates intervient à potentiel redox plus faible encore (<-221) et produit du CO<sub>2</sub>. La disponibilité de sulfates est un facteur limitant dans les zones de tourbières nordiques, très souvent les sulfates des sols proviennent de l'eau de mer ou bien des sols minéraux contenant par exemple de la pyrite. L'oxydation des sulfures de fer par les bactéries permet la libération de sulfates et ainsi sa réduction et la production de CO<sub>2</sub> (Schlesinger and Bernhardt, 1997). Finalement, les archées sont concurrencées par les bactéries sulfato-réductrices. La présence de sulfate diminue la méthanogenèse (Gauci et al., 2002). Il existe 2 réactions formant du CH<sub>4</sub> : la réduction du CO<sub>2</sub> par du dihydrogène (H<sub>2</sub>) et l'acétoclastie (la fermentation de l'acétate) (Corbett et al., 2015; Sugimoto and Wada, 1993). Une large portion du carbone minéralisé du catotelme l'est sous forme de CH<sub>4</sub> (Wieder et al., 2006). Il faut néanmoins noter que lors de la remontée du méthane vers la surface, l'oxydation du CH<sub>4</sub> en CO<sub>2</sub> est encore possible. En effet, plusieurs bactéries oxydent le méthane afin d'assimiler le carbone en présence d'oxygène, cette réaction est appelée la méthanotrophie (Frenzel and Karofeld, 2000; Wagner and Liebner, 2009). Plusieurs espèces de bactéries méthanotrophes sont présentes dans le pergélisol (Rivkina et al., 1998; Trotsenko and Khmelenina, 2005), ainsi la quantité de CH<sub>4</sub> qui atteint l'atmosphère est fortement dépendante de l'efficacité de ces méthanotrophes (Knoblauch et al., 2015; Parmentier et al.,



2011) et donc, selon le GES relargué vers l'atmosphère, le potentiel de réchauffement varie (cf. *sous-section 1.1.3*).



**Figure 1 - 6:** Schéma des différentes réactions biochimiques produisant des GES (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O et CH<sub>4</sub>) en fonction du potentiel redox de la tourbe. Inspiré d'un tableau d'[Huissteden \(2020\)](#). Echelle verticale non représentative.

Durant l'hiver, l'activité biologique des sols contrôle partiellement les taux de production de CO<sub>2</sub>. En effet, lors des périodes hivernales et malgré le gel omniprésent des sols, il a été démontré que de faibles épaisseurs d'eau se forment autour des particules de MOS, permettant ainsi une activité microbienne localisée ([Romanovsky and Osterkamp, 2000](#)). De plus, l'activité microbienne à des températures inférieures à 0 °C n'est pas inhabituelle (jusque - 40 °C), mais elle ralentit fortement avec la diminution de température ([Feller and Gerday, 2003](#); [Panikov and Dedysh, 2000](#); [Price and Sowers, 2004](#); [Rivkina et al., 2007, 2004, 2000](#)). Durant ces périodes, qui favorisent les conditions anaérobies, le transport vertical des gaz

dans les sols est dépendant du couvert de neige (épaisseur, porosité et tortuosité) (Mast et al., 1998; Sommerfeld et al., 1993) (Figure 1 - 6).

### **1.1.2.2 Transport du carbone des sols et de la végétation vers les points d'eaux**

Le carbone présent dans les sols peut être soumis à du lessivage qui est le transport par un liquide de particules solides non solubles ou dissoutes. Il existe deux types de lessivage dans les zones nordiques : le lessivage de la végétation et de la litière des sols, et le lessivage du supra-pergélisol (couche se trouvant au-dessus du pergélisol) (Figure 1 - 7). Le taux de C lessivé dans les tourbières dépend en premier lieu du taux d'écoulement hydrologique et de la production primaire nette (Devito et al., 1989; Moore et al., 2002; Sallantaus, 1992). Le lessivage de la végétation et de la litière dépend des eaux de surfaces, il est souvent le fait de précipitations, ou d'un « bain » continu dans lequel se développe la végétation. C'est le cas des zones très humides des tourbières (*i.e.* les dépressions et marais) dans lesquelles poussent généralement des sphaignes et des plantes de type graminées en contact constant avec de l'eau. Le lessivage du supra-pergélisol mobilise les particules de la tourbe se trouvant sous le niveau hydrostatique (*i.e.* dans le catotélme) et dépend donc de l'écoulement profond des eaux du sol. Le lessivage du C et la perte du COD des tourbières peut s'accroître sous l'effet du réchauffement climatique (Freeman et al., 2001) de par l'augmentation de l'épaisseur de la couche active, de l'allongement des périodes estivales, de l'augmentation des précipitations dans les régions nordiques, etc.

### **1.1.2.3 Le carbone dans les eaux**

Le carbone organique est présent sous 2 grandes formes dans les eaux : le carbone organique particulaire (COP) qui a une taille supérieure à 0,45 µm ; et le carbone organique dissous (COD) qui peut être filtré à 0,45 µm (Greenberg et al., 1985). Plusieurs sources peuvent apporter du COD et du COP aux eaux des lacs thermokarstiques (Figure 1 - 7) : *i)* l'érosion / l'effondrement des berges lors de la maturation des lacs (cf. **partie 1.1.1.5**) ; *ii)* le dégel du pergélisol sous-jacent ; *iii)* le lessivage de la végétation et de la litière ; *iv)* le lessivage du supra-pergélisol et finalement *v)* la lyse des cellules de micro-organismes autochtones et la décomposition des plantes aquatiques autochtones.

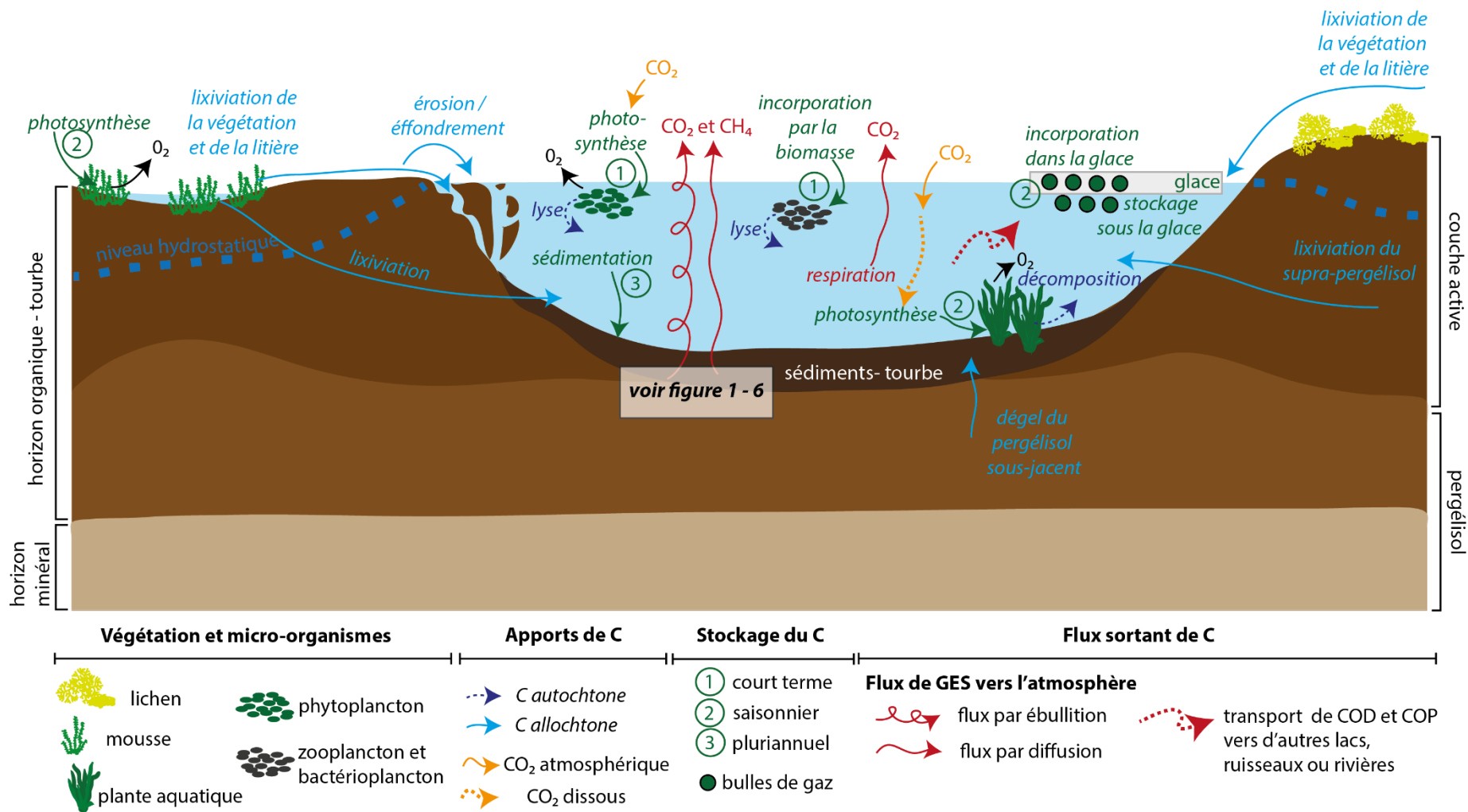


Figure 1 - 7: Schéma des apports, stockages et transferts de carbone dans les lacs thermokarstiques. Echelle verticale non représentative.

Il existe trois type de stockage du carbone dans les lacs thermokarstiques qui dépendent du temps de stockage (**Figure 1 - 7**): *i*) un stockage à court terme : par incorporation du carbone dans la biomasse végétale (phytoplancton et cyanobactérie) et la biomasse bactérienne (zoo- et batério-plancton) (Pavlova et al., 2016; Shirokova et al., 2015, 2017b) ; *ii*) un stockage saisonnier : avec l'incorporation du carbone dans la biomasse des végétaux aquatiques (Pavlova et al., 2016), l'incorporation en période hivernale des GES dans la glace des lacs et/ou leurs accumulations sous la glace (Busmann et al., 2020; Elder et al., 2019); ainsi que le stockage estival de ces gaz dans l'hypolimnion (Matveev, 2019; Matveev et al., 2016; Prėskienis et al., 2020); et finalement *iii*) un stockage pluriannuel, qui dépendra du stade de maturation du lac thermokarstique (cf. **partie 1.1.1.5**) : avec une sédimentation du carbone organique par floculation/coagulation et/ou coprécipitation de COP et de colloïdes organométalliques.

Dans les eaux des lacs, la photodégradation (Doane, 2017; Porcal et al., 2015; Shiller et al., 2006) et la cryodégradation (Pokrovsky et al., 2018) permettent de générer des molécules de carbone à faibles poids moléculaires à partir de molécules à haut poids moléculaires. Les molécules résultantes sont alors plus labiles et faciles à utiliser lors des processus de biodégradation. Lorsque le carbone quitte l'eau des lacs thermokarstiques il est soit sous forme particulaire et/ou dissoute lors des transferts de masses d'eaux des lacs vers d'autres lacs ou vers des rivières ; ou bien sous forme gazeuse (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) vers l'atmosphère (**Figure 1 - 7**). La production de ces GES dans les eaux des lacs peut être le résultat des différentes réactions évoquées dans le cas des productions de CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> par les sols (cf. **partie 1.1.2.1** et **Figure 1 - 6**), qui se produisent dans les sédiments des lacs ou bien dans les dépôts dégelés sous-jacents (talik). Ces gaz peuvent alors être transférés vers l'atmosphère par ébullition ou par diffusion dans l'eau. La respiration du carbone (biodégradation du COP ou COD) dans les eaux mène à la production de CO<sub>2</sub> et/ou de CH<sub>4</sub> (en fonction des conditions oxiques des eaux) pouvant être transféré vers l'atmosphère par diffusion.

Il a été démontré que les communautés microbiennes des lacs thermokarstiques varient fortement de l'été à l'hiver. Durant l'été, les réactions impliquant le C sont principalement phototrophes et aérobiques et utilisent du C labile et des substrats photo-dégradés alors que durant l'hiver, les processus de réduction métabolique, de fermentation et de dégradation de

MO complexe dominant (Vigneron et al., 2019). Il a aussi été démontré que la biomasse bactérienne ne change pas entre les périodes d'été et d'hiver (Vigneron et al., 2019).

Dans la suite de ce manuscrit seul le COD est mesuré et discuté car ce dernier est la forme majoritaire de CO terrestre exporté du sol vers les lacs, les tourbières et les rivières (Chapin et al., 2006; Cole et al., 2007). S'il n'est pas abordé dans cette thèse, le COP n'en reste pas moins très important dans le cycle du carbone des eaux. En effet, il a été prouvé que le taux de biodégradation du COP est 15 fois supérieur à celui du DOC dans les eaux boréales continentales (Attermeyer et al., 2018).

### **1.1.3 Le réchauffement climatique et ses conséquences en régions nordiques**

Le réchauffement climatique est un fait avéré et discuté depuis maintenant plusieurs décennies à l'international. Ainsi les meetings internationaux sur ce sujet se succèdent, tels que l'IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) et la COP (Conference Of the Parties); le grand public est alors informé des différents dangers que représente ce phénomène *i.e.*, montée des eaux, disparition de certaines espèces, blanchiment des coraux etc. Mais il est un impact du réchauffement climatique encore peu connu et vulgarisé au grand public : le dégel du pergélisol dans les régions boréales, arctiques et subarctiques.

#### **1.1.3.1 Prédictions climatiques et températures**

Si les modèles prévisionnel du climat indiquent une hausse des températures globale de la Terre de 5 °C dans le siècle à venir (IPCC, 2013; Koenigk et al., 2013), la plus grande hausse de température sera observée dans les régions arctiques. En effet, actuellement la température de ces régions augmentent de 0,6 °C par décennie, ce taux est 2 fois supérieur à celui observé aux autres latitudes (Cohen et al., 2014). Cet effet décuplé du réchauffement climatique sur les régions arctiques est nommé « amplification Arctique » (Overland and Wang, 2013; Serreze et al., 2009). Les modèles de projections indiquent que la profondeur moyenne de dégel du pergélisol va augmenter et que les aires où le pergélisol se trouve proche de la surface vont diminuer significativement (Koven et al., 2013; Meredith et al., 2019; Slater and Lawrence, 2013). De plus, les aires de lacs thermokarstiques dues aux dégels abruptes du pergélisol vont augmenter de 53% (Walter Anthony et al., 2018) sur les  $1,4 \times 10^6$  km<sup>2</sup> des étangs et petits lacs de dégel qui existent actuellement dans les zones de pergélisol (Muster et al., 2017). Si ces régions sont celles qui subiront la plus grosse hausse de température, elles

sont aussi celles qui ont un potentiel de rétroaction positive le plus important face au réchauffement climatique.

### **1.1.3.2 Conséquences**

Il existe plusieurs conséquences au réchauffement climatique des régions nordiques, tels que la formation de « cratères », notamment dans la péninsule de Yamal, située au Nord-Ouest de la Sibérie, due à l'accumulation souterraine de méthane et de dioxyde de carbone lors du dégel du pergélisol (Goudet, 2017), mais aussi les effondrements abrupts et massifs de pergélisols (Turetsky et al., 2020) et les feux estivaux qui ravagent les forêts Sibériennes (AFP, 2020). Ces phénomènes de taille importante, d'apparition soudaine et inédite sont très médiatisés. Le réchauffement climatique peut aussi avoir des conséquences moins connues et moins abruptes : une migration vers le Nord des sub-zones de végétation (cf. **partie 1.1.1.4**) (Huissteden, 2020), la prolifération d'espèce invasives auparavant inadaptées à ces milieux (Dokulil, 2014), l'augmentation du nombre de petits plans d'eaux (Hinkel et al., 2003; Riordan et al., 2006; Zakharova et al., 2009; Zimov et al., 1997) qui sont des sources de CO<sub>2</sub> (Shirokova et al., 2020) et de CH<sub>4</sub> (Negandhi et al., 2013; Préskienis et al., 2020), ainsi que la libération de micro-organismes jusqu'à présent piégés dans le pergélisol depuis 2 à 3 millions d'années (Vishnivetskaya et al., 2000), etc.

Dans le cas des effets directs du réchauffement climatique sur le carbone, l'accélération du dégel du pergélisol entraîne une « libération » de CO autrefois piégé et donc « retiré » du cycle du carbone global. Actuellement, les bassins versant Arctiques transportent en moyenne 34 TgC an<sup>-1</sup> de COD et 6 TgC an<sup>-1</sup> de COP à l'océan Arctique (Holmes et al., 2012; McGuire et al., 2009). A ce dégel du pergélisol et ce transport massif de carbone vers l'océan Arctique s'ajoute la réactivation des bactéries hétérotrophes et d'archées capables de dégrader/minéraliser efficacement et à faible température le C organique sous forme de CO<sub>2</sub> en conditions aérobies et de CH<sub>4</sub> en conditions anaérobies. Ces deux gaz sont connus pour être de puissant GES et donc participent fortement au changement climatique. En effet, il est établi que le potentiel de réchauffement du méthane est 34 fois plus élevé que celui du dioxyde de carbone sur 100 ans (IPCC, 2013). De plus, il est estimé que 120-195 Pg-C seront graduellement relâchés vers l'atmosphère d'ici 2100 due au dégel et à la décomposition de la matière organique du pergélisol (Schuur et al., 2015).

Les projections récentes et promues par le dernier rapport de l'IPCC sur l'océan et la cryosphère (Meredith et al., 2019) indiquent que le C relargué sous l'effet de l'augmentation des températures par les grands réservoirs profonds de carbone serait moins rapide et massif que précédemment indiqué (Schuur et al., 2015). De plus, la réponse respiratoire des micro-organismes soumis à cette augmentation des températures serait gouvernée par une utilisation préférentielle du C « jeune » des sols (Pries et al., 2015), ie du C labile. En effet, dans les régions de toundra Arctiques, l'âge des sols augmente avec la profondeur (Hicks Pries et al., 2012; Schirrmeister et al., 2011) et les sols profonds se décomposent souvent plus lentement que les sols proches de la surface (Bracho et al., 2016; Schädel et al., 2014).

Cela peut être causé par de la MO en profondeur qui a déjà subi un fort degré de décomposition durant les périodes passées de dégel (Berg and Staaf, 1980) par la MO labile qui est adsorbée par les surfaces chargées et occulte les micropores des sols minéraux (Marín-Spiotta et al., 2014; Schmidt et al., 2011) ou à cause d'une faible activité microbienne (Waldrop et al., 2010).





## ***Section 1.2***

# ***Matériels et Méthodes***

## **1.2.1 Méthode d'échantillonnage**

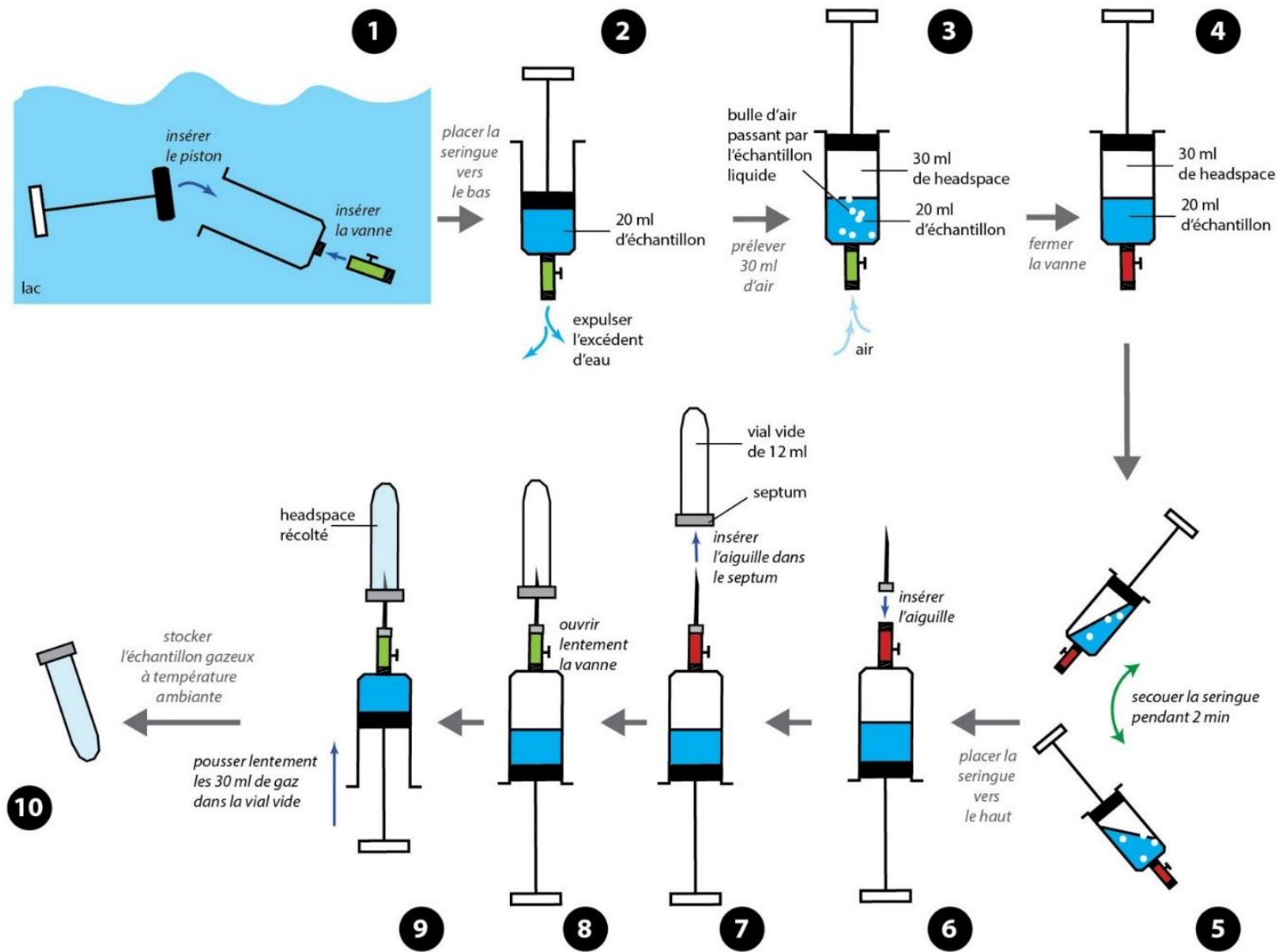
### **1.2.1.1 Prélèvements de tourbe et de la végétation sur le terrain**

Les prélèvements de la végétation et de la tourbe ont été réalisés respectivement par collecte de la flore à la main en surface, et à l'aide d'une fosse pédologique permettant la récolte en profondeur de substrats solides. Les différents substrats furent conservés soit (i) dans le cas des substrats de surface et des substrats issus de la couche active du sol, après séchage total de la matière (liophilisation et/ou passage à l'étuve) permettant ainsi la conservation d'une grande partie de la faune aérobie hétérotrophe autochtone ; (ii) congelés pour les substrats solides issus du pergélisol et certains substrats de la couche active permettant de préserver (avec le substrat) la faune autochtone anaérobie naturelle ainsi que l'eau interstitielle.

### **1.2.1.2 Prélèvements gazeux sur le terrain**

Les échantillons gazeux, servant à mesurer les concentrations de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) dans les eaux, ainsi que leurs isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$ ), ont été prélevés en suivant le protocole décrit ci-dessous (**Figure 1 - 8**) :

**(1)** Ouvrir une seringue de 60 mL (TERUMO®) et la placer sous l'eau, refermer la seringue et y fixer une valve ouverte sur l'embout ; **(2)** Sortir la seringue de l'eau est la tenir tête en bas, expulser l'excédent d'eau afin de ne garder que 20 mL ; **(3)** Toujours tête en bas et la vanne ouverte, prélever 30 mL d'air qui doivent passer par la phase liquide contenue dans la seringue ; **(4)** Refermer la vanne ; **(5)** Agiter la seringue pendant 2 minutes afin d'équilibrer les concentrations en CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> de la phase gazeuse et de la phase liquide ; **(6)** Lorsque l'agitation est terminée fixer une aiguille de 0,6 mm de diamètre (TERUMO®; 0,6\*30 mm) à la vanne ; **(7)** L'ensemble seringue-vanne-aiguille est alors tenu avec l'aiguille pointée vers le ciel, l'aiguille est ensuite introduite dans le septum d'une vial sous vide (Exetainer®) d'une contenance de 12mL ; **(8)** Ouvrir la vanne; **(9)** Pousser les 30 mL de gaz présent dans la seringue dans la vial, en prenant garde de ne pas y introduire de phase liquide (la position "tête en haut" de l'assemblage permet ainsi de n'introduire que la phase gazeuse dans le flacon) ; **(10)** conserver les vials à température ambiante jusqu'à l'analyse.



**Figure 1 - 8:** Protocole de prélèvement gazeux sur le terrain.

### **1.2.1.3 Prélèvements d'eaux sur le terrain**

#### **a. Prélèvements**

Les échantillons d'eaux des lacs thermokarstiques destinés aux analyses du carbone organique et inorganique dissous (respectivement COD et CID), des acides organiques et des anions ont été prélevés à l'aide d'une seringue de 60 mL (TERUMO®), puis filtrés à l'aide de filtre pour seringue ayant un diamètre de pores de 0,45 µm (Minisart®, Sartorius) et stockés dans des tubes en plastiques de 10 mL (Corning®). Un échantillon d'eau destiné au dénombrement des bactéries a été prélevé et filtré à l'aide d'un filtre GF/C (diamètre du pore : 1,2 µm).

Les échantillons destinés à la mesure des éléments traces ont été filtrés à 0,45 µm et stockés dans des tubes plastiques de 10 mL (Corning®). Ces tubes ont été préalablement lavés à l'acide chloridrique (HCl 1N) et rincés à l'eau MQ dans une salle grise de classe ISO 8.

Les échantillons destinés à l'analyse du CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> dissous ont été prélevés dans des tubes en verre fermés par des septums (bouchon en caoutchouc, Wheaton Industries) et scellés par des capsules en aluminium (Wheaton Industries). Le prélèvement de ces échantillons se fait directement dans les tubes totalement immergés afin de ne prélever que la phase liquide (évite le prélèvement de phase gazeuse).

#### **b. Filtration et ultrafiltration des eaux prélevées**

Les filtrations et ultrafiltrations des eaux prélevées permettent de séparer la fraction de faible poids moléculaire (Low Molecular Weight, LMW<sub><1 kDa</sub>) ainsi que les deux groupes de colloïdes : à haut poids moléculaires (High Molecular Weight, HMW<sub>50 kDa-0,45 µm</sub>) et à faible poids moléculaires (LMW<sub>1-50 kDa</sub>) (Pokrovsky et al., 2018). Les filtrations des eaux à 0,45 et 0,22 µm sont réalisées à l'aide de pompes à vide manuelles et d'unités de filtrations stériles (Nalgene®), sur le terrain et en laboratoire. L'ultrafiltration des eaux prélevées sur le terrain, et dont les résultats sont discutés dans le **chapitre 2 section 2.1**, ont été réalisées par centrifugation (4000 rpm, 20 min) à l'aide de cartouches Amicon Ultracell de 15 mL à 100, 50, 3 et 1 kDa. Pour plus de détails sur les artefacts possibles induits par la technique d'ultrafiltration utilisée dans cette thèse, se référer aux travaux d'Oleinikova et al. (2017b).

### **c. Fixation et conservation**

Les échantillons destinés (i) à la mesure du COD, ont été fixés à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl) 0,1 N (1 à 2 gouttes par tube de 10 mL), (ii) au dénombrement des bactéries (méthode de comptage DAPI et cytométrie) ont été fixés par ajout d'une goutte de glutaraldéhyde à 25% (2% de la concentration finale), (iii) à la mesure du CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> dissous ont été fixés à l'aide du dichlorure de mercure (HgCl<sub>2</sub>) et (iv) à l'analyse des acides organiques et anions ont été congelés après prélèvement. Tous les échantillons ont ensuite été stockés au réfrigérateur à 4 °C, à l'exception des échantillons destinés à la mesure des acides organiques et anions, et du CID qui ont été stockés au congélateur (-20 °C) jusqu'à leurs analyses.

### **1.2.2 Mesures in situ**

Sur le terrain, seuls quelques paramètres ont été mesurés *in situ* : le pH, la conductivité, l'oxygénation de l'eau, la concentration en CO<sub>2</sub> dissous, la température de l'eau et de l'air ainsi que les flux de CO<sub>2</sub> des plans d'eaux.

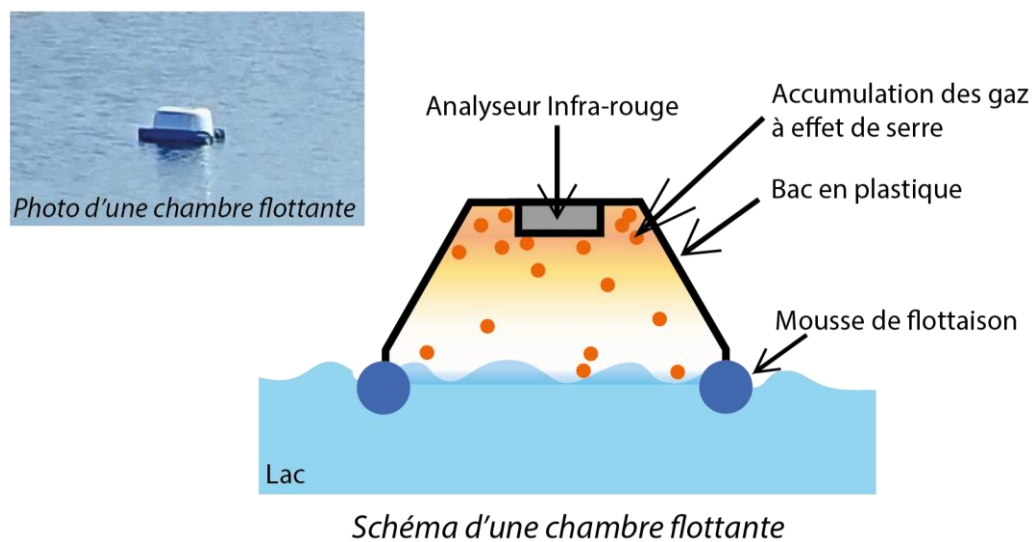
#### **1.2.2.1 Paramètres physico-chimiques**

La mesure des paramètres physico-chimiques tels que le pH, la conductivité et l'oxygène dissous (O<sub>2</sub> dissous) a été effectuée à l'aide d'un analyseur multi-paramètres (SenTix 41 ; ±0,02 pH). La concentration en dioxyde de carbone dissous (CO<sub>2</sub> dissous) a été mesurée grâce à un analyseur portatif de CO<sub>2</sub> (Vaisala GM70, limite de détection : 400 - 20 000 ppm). La température des eaux a été relevée à partir du thermomètre intégré de l'analyseur multi-paramètres et celle de l'air à l'aide d'un thermomètre électronique.

#### **1.2.2.2 Flux de CO<sub>2</sub>, utilisation d'un système de chambre flottante**

Les flux de CO<sub>2</sub> des lacs ont été mesurés à l'aide d'un système de chambre flottante (**Figure 1 - 9**) composée d'un bac en plastique auquel est ajouté sur les rebords de la mousse flottante, assurant la flottaison de la chambre posée sur le lac. La concentration en CO<sub>2</sub> dans la chambre est mesurée par absorbance infra-rouge. Les dimensions connues de la chambre et les concentrations de CO<sub>2</sub> s'accumulant dans la chambre en fonction du temps permettent ainsi de déterminer un flux de CO<sub>2</sub>. Les chambres flottantes sont retournées (libérant ainsi les gaz accumulés préalablement) puis replacées sur les lacs toutes les 2 heures environ afin de ne pas saturer la chambre de mesure et donc l'analyseur infra-rouge. Quasiment aucune dérive de pente n'a été notée sur les 2 heures de pose de la chambre flottante. Néanmoins, les flux

de CO<sub>2</sub> des lacs ont été réalisés sur les 10 premières minutes de mesure après retournement des chambres. Les résultats de ces mesures sont présentés dans la **partie 1.2.4.3-b**. La configuration de chambre flottante utilisée durant nos expériences pourrait être améliorée par l'ajout d'une pompe faisant circuler l'air dans la chambre afin d'éviter une répartition non homogène des gaz.



**Figure 1 - 9:** Photo et schéma d'une chambre flottante lors des mesures de production de CO<sub>2</sub> des lacs.

Cette méthode de mesure des flux de CO<sub>2</sub> a été utilisée dans le cadre d'une étude de l'influence des variations journalières de deux lacs thermokarstiques, à stade de maturation différents, sur les paramètres physico-chimiques et biologiques des eaux de ces lacs (voir **chapitre 2, sous-section 2.1.2**). Cette étude a été réalisée en Sibérie occidentale – Khanymey. Le plus grand lac étudié est le lac Trisino, sur lequel ont été placés 6 chambres flottantes. Le plus petit lac se nomme Chernoe, sur lequel 4 chambres flottantes y ont été placées. Chaque chambre sert de réplicat aux mesures effectuées sur 2 heures de temps.

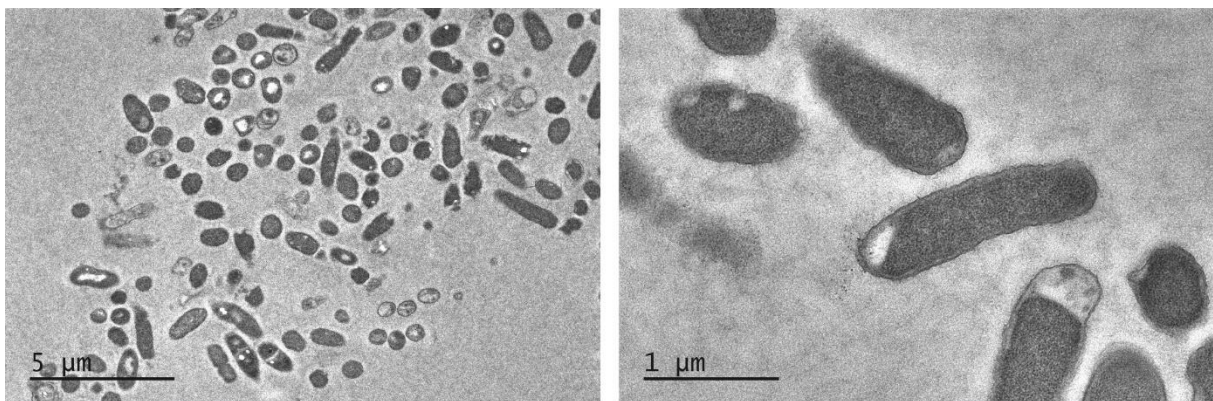
## 1.2.3 Expériences en laboratoire

### 1.2.3.1 Culture et concentration de la biomasse microbienne : *Iodobacter sp.*

La souche de la bactérie hétérotrophe aérobie utilisée dans les expériences a été isolée lors de l'étude menée par [Shirokova et al. \(2017\)](#) à partir d'eau des lacs thermokarstiques en zone de pergélisol discontinu du site de la toundra Bolshezemelskaya (BZT, en Russie

Européenne). Elle a été cultivée sur de l'agar nutritif (gélose nutritive à 2,8% ; ISO, Fischer Scientifique Bioblock) dans des boîtes de Pétri afin d'isoler les cultures pures (protocole d'isolation de la souche bactérienne par [Shirokova et al., 2012](#)). Cette bactérie a ensuite été identifiée, par extraction ADN (UltraClean®) et amplification du gène 16S rRNA, comme étant *Iodobacter* sp. (O1WB03.2-33 sur Genbank ID, **Figure 1 - 10**), une bactérie hétérotrophe aérobie, Gram-négative, en forme de bâtonnets (0,7 µm x 1,4-1,7 µm) et mobile grâce à un ou plusieurs flagelles polaires et latéraux. *Iodobacter* sp. fait partie de l'embranchement des protéobactéries et de la famille des Chromobacteriaceae.

Cette souche *Iodobacter* sp. a été cultivée au laboratoire de biogéochimie du GET (Université Toulouse 3, Observatoire Midi-Pyrénées) dans un bouillon nutritif stérile (BN à 0,8% de la marque Fischer Scientific Bioblock, autoclavé à 121°C pendant 15 minutes) et placé à 25°C pendant 3 à 4 jours afin d'atteindre la biomasse nécessaire au lancement des expériences. La culture a ensuite été concentrée par centrifugation du mélange BN-bactéries à 6000 rpm pendant 15 minutes dans des tubes à centrifugation autoclavés. La totalité de la biomasse a alors été collectée et pesée en gramme de biomasse humide. La souche est conservée en aérobie à 4 °C au réfrigérateur.



**Figure 1 - 10:** Images en Microscopie Electronique à Transmission (MET) de la souche bactérienne *Iodobacter* sp.

### 1.2.3.2 Lixiviation/lessivage des substrats

Les termes de lessivage et de lixiviation désignent tous deux un transport de matériel *via* une solution aqueuse (souvent de l'eau). En milieu naturel ce transport correspond souvent à du ruissellement de surface, de l'infiltration ou bien de la percolation dans les sols. La lixiviation et le lessivage sont le résultat de l'interaction entre un substrat solide et une solution aqueuse durant laquelle des particules sont extraites du substrat solide par hydrolyse

et/ou dissolution. Néanmoins, le lessivât est un terme désignant un transport de particules non solubles alors que le terme lixiviat indique un transport de particules solubles. Dans la suite de ce manuscrit le terme lixiviation et son résultat (le lixiviat) sera utilisé comme indiquant à la fois le transport d'éléments solubles et non solubles afin (i) de correspondre au terme anglais (leachate) utilisé dans certaines parties du manuscrit (**chapitre 4 et 5**), et (ii) parce que les interactions solide/eau réalisées dans le cadre de cette thèse permettent la libération de particules solubles et non solubles dans la solution aqueuse. L'incubation de lixiviat dans cette étude permet d'observer spécifiquement le comportement de la MO dissoute (inférieur à 0,45 µm) lors des processus de biodégradation.

Tous les lixiviats utilisés dans les expériences ont été obtenus en ajoutant 10 g/L de substrat solide à de l'eau MQ préalablement autoclavée (121°C pendant 20 minutes). Le tout est placé sous agitation pendant 3 jours. Ces 3 jours de lixiviation servent à extraire les particules solubles et non solubles du substrat solide. Néanmoins, il faut noter que durant cette période les particules les plus labiles extraites du substrat peuvent avoir été minéralisées, *i.e.* avant même l'utilisation des lixiviats dans les incubations. Ces mélanges sont ensuite centrifugés à 5000 rpm pendant 10 à 15 minutes afin de séparer la phase liquide de la phase solide. La phase liquide récupérée est ensuite filtrée en condition stérile (sous hotte à flux laminaire) à l'aide d'unités de filtrations autoclavées (121°C pendant 20 min) et de membranes nylon ayant un diamètre de pores de 0,45 µm. La filtration se fait volontairement à 0,45 µm et pas 0,22 afin de conserver une partie de la biomasse autochtone.

### **1.2.3.3 Microcosmes en conditions aérobies**

Les microcosmes en laboratoires ont pour but de reproduire en miniature le système naturel et les processus pouvant s'y dérouler tout en contrôlant une partie des paramètres tels que la température, l'exposition aux UV (lumière naturelle), l'agitation, l'oxygénation et l'ajout de bactérie.

Toutes les mises en place d'incubations se font en condition stérile et dans des bouteilles en verres autoclavées. Les incubations de substrats (lixiviat ou solide) contenant la biomasse des bactéries hétérotrophes sont placées à l'abri de la lumière afin d'éviter toute photodégradation de la matière organique. L'ajout des bactéries hétérotrophes dans les incubations se fait toujours à 1g/L de biomasse humide.



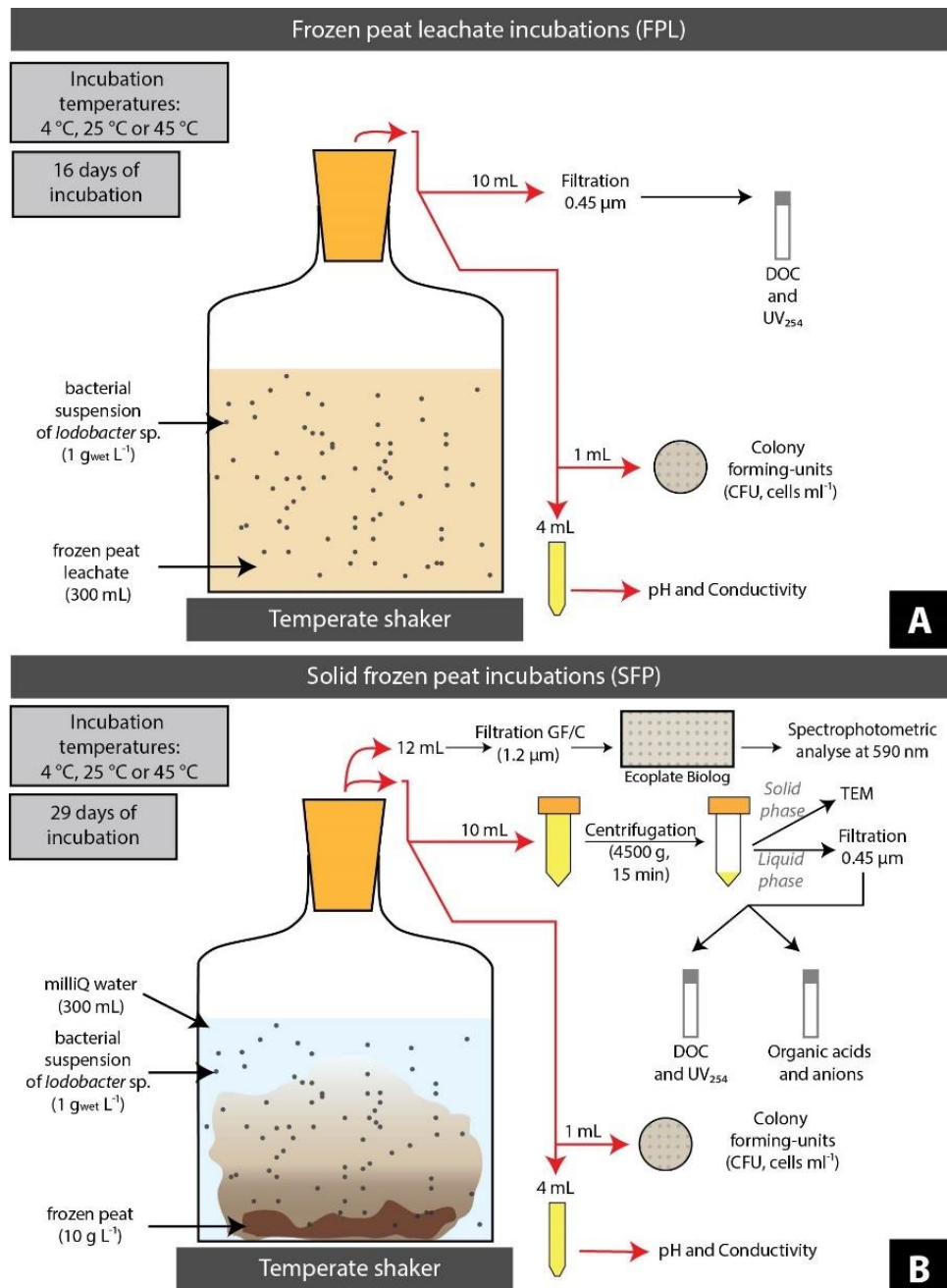
**a. *Expérience de l'effet de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes sur la biodégradation et le relargage de MO provenant de la tourbe gelée (cf. chapitre 5 section 5.1.) :***

Dans cette expérience, la MO de tourbe gelée de Russie Européenne (BZT, **chapitre 2, section 2.1.1**) provenant de la couche active et proche de la limite avec le pergélisol (39 cm) a été utilisée. Elle a été incubée sous forme particulière (non filtrée : SFP pour « Solid Frozen Peat ») et dissoute (filtrée à 0,45 µm : FPL pour « Frozen Peat Leachate »), avec et sans ajout de bactéries hétérotrophes, *Iodobacter* sp. (**partie 1.2.3.1**) extraites des lacs thermokarstiques de la même région, et exposées à différentes températures (4, 25 et 45 °C). Ces températures ont été choisies comme étant représentatives, i) à 4 °C de l'eau des lacs durant les périodes de printemps et d'automne (Manasypov et al., 2015), ce sont les températures de transition entre l'état liquide des eaux du lac et le gel de ces eaux, ii) à 25 °C de l'eau des lacs en été (Shirokova et al., 2019b, 2013) et iii) 45 °C comme une température extrême (non atteinte par l'eau des lacs actuellement) qui peut s'observer à la surface des lichens de cette régions durant les vagues de chaleurs d'été (Pokrovsky et al., 2013).

Les lixiviats de la tourbe gelée (MO dissoute) ont été préparés selon la méthode décrite en **partie 1.2.3.2**. Les mésocosmes de matière organique solide (pas de filtration) ont été réalisés à partir d'un mélange d'eau MilliQ autoclavée et de substrats solides sec à 10 g/L. Avant l'utilisation de la tourbe gelée en tant que substrat solide, une aliquote de tourbe gelée a été lyophilisée afin de déterminer le pourcentage d'eau et de tourbe sèche composant ce substrat (composition de la tourbe gelée : 28% d'eau et 72% de tourbe sèche) afin de respecter un ajout de 10 g/L de substrat sec. Un schéma des incubations est présenté en **Figure 1 - 11** (figure utilisée pour l'article présenté dans le **chapitre 5, section 5.1**). Une suspension homogène de bactérie hétérotrophe a été ajoutée dans des bouteilles en verre stérile de 500 mL contenant soit 300 mL de lixiviat (microcosmes FPL) soit 300 mL du mélange eau MQ et tourbe gelée (microcosmes SFP) afin d'obtenir une concentration initiale de bactérie de 1 g<sub>humide</sub>/L. Des incubations de contrôle ont été réalisées pour les 3 températures de cette étude, sans l'ajout de bactéries hétérotrophes. Les incubations ont été réalisées en duplicat pour chaque température, soit au total 12 microcosmes avec MO particulière dont 6 sans ajout de bactéries hétérotrophes, et 9 avec MO dissoute dont 3 sans ajout de bactéries (microcosmes de contrôle avec MO dissoute non réalisés en duplicat). Les microcosmes ont été placés aux

trois températures (4, 25 et 45 °C) sous agitation continue à l'aide d'un agitateur orbital et à l'abri de la lumière.

L'incubation des microcosmes a duré 29 et 16 jours, respectivement pour les microcosmes de MO particulaire (SFP) et de MO dissoute (FPL). Ce choix d'un temps d'incubation différent a été fait en fonction du temps nécessaire pour atteindre une concentration stable en COD dans les microcosmes. Toutes les analyses réalisées à partir des microcosmes sont indiquées sur la **Figure 1 - 11** ci-dessous et le détail des différentes analyses est donné en **sous-section 1.2.4**. Une aliquote homogène de 15 mL a été prélevée de chaque microcosme. Une partie non filtrée de cette aliquote a été utilisée pour la mesure du pH (incertitude de  $\pm 0,01$ ) et de la conductivité (incertitude de  $\pm 0,1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). Le reste des 15 mL a été centrifugé pendant 15 minutes à 4500g et le surnageant a été filtré à  $0,45 \mu\text{m}$  (filtre de seringue Minisart®). Dans le filtrat, les teneurs en carbone organique et inorganique dissous (COD et CID) ont été dosées et l'absorbance UV des eaux a été mesurée afin de calculer l'indice d'aromaticité nommé  $\text{SUVA}_{254}$ . Dans le cas des microcosmes à MO particulaire (SFP), une analyse supplémentaire a été réalisée sur le surnageant filtré afin de doser les acides organiques et les anions en solution. Dans le but d'évaluer le nombre de bactéries hétérotrophes vivantes dans les microcosmes, 1 mL du surnageant non filtré a été inoculé sur des plaques d'agar pour comptage optique. Dans le cas des microcosmes contenant de la MO particulaire, à la fin des 29 jours d'incubation, 12 mL d'un des duplicat à chaque température, avec et sans ajout de bactéries hétérotrophes, ont été utilisés afin de déterminer la biodiversité fonctionnelle de la communauté microbienne des microcosmes *via* l'utilisation des Ecoplate de la marque Biolog. Toujours dans le cas des microcosmes avec MO particulaire, au début et à la fin des incubations, une aliquote homogène de la tourbe utilisée et incubée à chaque température, avec et sans ajout de bactéries hétérotrophes a été observée au microscope électronique à transmission (MET).



**Figure 1 - 11:** Schéma des deux types d'incubations réalisées dans le cadre de l'étude de l'impact de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes sur le relargage et la biodégradation de la MO, ainsi que les conditions d'incubations et les différents prélèvements et analyses réalisés. A : incubation de MOD et B : incubation de MOP.

**b. Expérience de biodégradation de la matière organique dissoute provenant d'un transect hydrologique (cf. chapitre 3)**

Dans cette expérience, nous avons incubé des eaux provenant d'un continuum hydrologique de Sibérie et de Suède afin de déterminer le potentiel de biodégradation de ces eaux en utilisant la méthode décrite par (Vonk et al., 2015a). Le pergélisol du site Suédois dégèle depuis plus longtemps que celui de la Sibérie, c'est cette différence qui a motivé le

choix et la comparaison de ces 2 sites pour cette étude. Les eaux collectées sur le terrain ont été rapportées au laboratoire pour être utilisées sous 10 h après leurs prélèvements. Une fois au laboratoire, les eaux ont été filtrées grâce à des unités de filtrations autoclavées (121 °C pendant 20 minutes) et des membranes filtrantes GF/F (Whatman, diamètre de pore de 0,7 µm) pyrolysées pendant 4 heures à 450 °C. Les eaux filtrées ont ensuite été stockées dans des flacons en verre stériles (autoclavés à 121 °C pendant 20 minutes) à 20 ± 2 °C à l’abri de la lumière, et, afin de maintenir des conditions oxiqes dans les flacons, les bouchons ont été posés et non vissés sur les flacons. Par ailleurs, les flacons ont été agités manuellement tous les 2 jours au minimum. Les microcosmes de chaque plan d’eau ont été réalisés en duplicat dans le cas de la Sibérie et en triplicat dans le cas de la Suède (le nombre de réplicats par expériences dépend des moyens techniques à disposition sur les sites d’étude). Pour chaque prélèvement (voir détail des jours de prélèvement **Tableau 1 - 2**), les eaux récoltées sont de nouveau filtrées à travers des membranes filtrantes GF/F (Whatman®). Les détails des analyses réalisées à partir des eaux de la Sibérie et de la Suède sont résumés dans le **Tableau 1 - 2**.

**Tableau 1 - 2:** Détails des analyses de l’expérience de biodégradation d’un continuum hydrologique.

	Sibérie	Suède
<b>Nombre de réplica par échantillon</b>	2	3
<b>Durée de l’expérience (jours)</b>	30	15
<b>Jours de prélèvements</b>	0 – 3 – 5 – 11 – 30	0 – 3 – 5 – 11 – 15
<b>Analyses effectuées</b>		
<b>pH</b>	oui	oui
<b>Conductivité</b>	oui	oui
<b>Absorbance (250-500 nm)</b>	oui	oui
<b>Indice de fluorescence (FI)</b>	non	oui
<b>COD et CID</b>	oui	oui
<b>Dosage des Acides organiques</b>	non	oui
<b>Dosage des Anions</b>	non	oui
<b>Comptage DAPI</b>	oui	oui
<b>Comptage CFU</b>	non	oui

**c. *Expérience de l’effet du gel-dégel sur le comportement de la MOD et des éléments traces (ET) (cf. chapitre 4)***

Dans cette expérience, la MO utilisée provient de 3 sources différentes prélevées sur le site de la Russie Européenne (BZT) : i) de l’eau des lacs thermokarstiques, ii) de lixiviat de la végétation et iii) de lixiviat de tourbe provenant de la couche active et du pergélisol.

Les eaux utilisées dans cette expérience proviennent i) d'une petite dépression (BZ-34), d'un lac thermokarstique (BZ-13) et d'une grande rivière (rivière Pechora, BZ-31). Le détail de la localisation de ses points d'eaux est répertorié dans le **chapitre 4**.

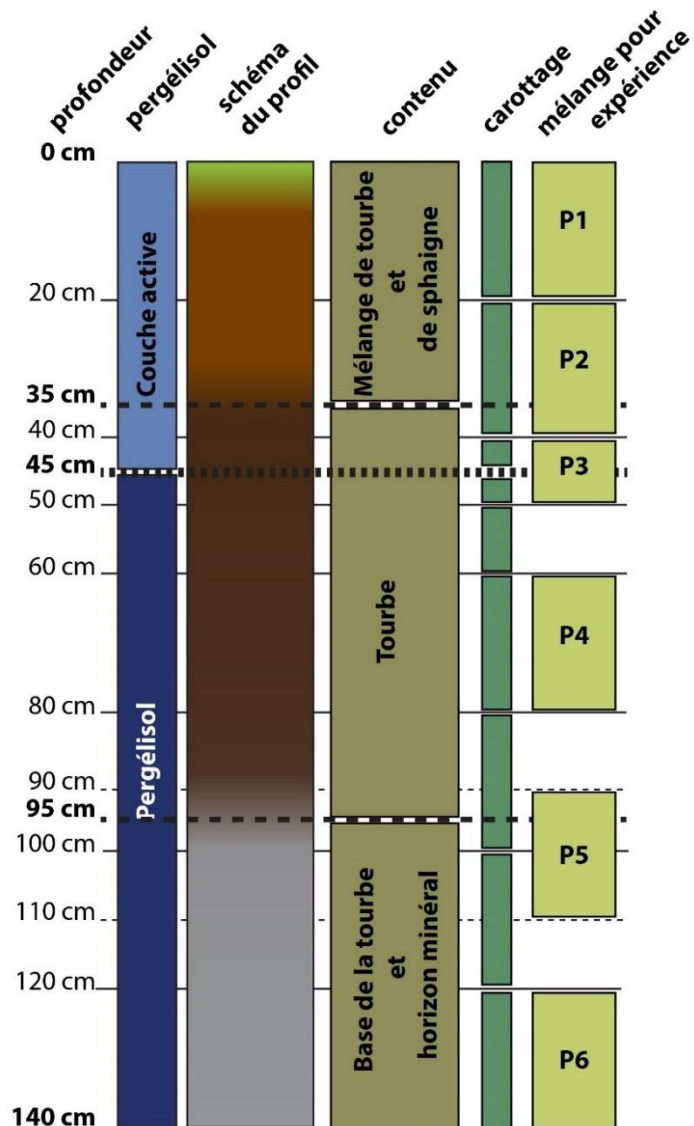
La tourbe et la végétation utilisées ont été collectées à la bordure du lac thermokarstique mentionné ci-dessus (BZ-13, voir [Shirokova et al. \(2019\)](#) pour les détails de localisation et de techniques de prélèvements). Deux tourbes ont été utilisées, une provenant de la couche active du sol et une autre du pergélisol. Toutes les deux sont des tourbes oligotrophiques et composées de *Sphagnum angustifolium*, d'*Eriophorum*, de *Scheuchzeria palustris*, de *Carex limosa*, de lichens, d'arbustes nains et de quelques débris de bois (pins) et de mousses ([Payandi-Rolland et al., 2020a](#)). La tourbe utilisée est essentiellement composée de sphaigne, qui représente la plus grande partie des écosystèmes des tourbières boréales ([Turetsky et al., 2008](#)). Cette végétation est majoritairement composée de *Sphagnum* (*Sphagnum fuscum* and *Sphagnum angustifolium*) et de lichens (*Cladonia sp.*), qui colonise les micro-dépressions et micro-bosses (hummocks) de la tourbière. Les lixiviats de la tourbe et de la végétation ont été réalisés en suivant le protocole décrit en **partie 1.2.3.2**. Après la préparation de ces lixiviats, ils ont été filtrés à 0.22 µm afin de retirer la biomasse microbienne ce qui permet d'observer uniquement les effets des cycles de gel-dégel sur la MOD et les éléments traces (ET), sans l'influence de la biodégradation. 150 mL des lixiviats et des eaux ont été ajoutés séparément dans des bouteilles Nalgene® stérilisées de 200 mL. Chaque substrat (*i.e.* eaux provenant du terrain et lixiviats de la tourbe et de la végétation) a été incubé en triplicat.

Chaque cycle de gel-dégel se déroule de la manière suivante : les bouteilles de Nalgene® remplies sont placées au congélateur à -20 °C dans le noir pour au moins une nuit. Après le gel total des liquides dans les bouteilles, celles-ci sont placées au réfrigérateur à 4 °C pendant 5 heures afin de laisser les substrats dégeler. Durant toute l'expérience, les substrats ont subis 9 cycles de gel-dégel, ce qui correspond à la moyenne annuelle de cycle de gel-dégel des sols dans les régions boréales et zones Arctiques (entre 5 et 15 cycles d'après [Henry, 2008](#)) et correspond à peu près au nombre de cycles utilisés dans l'expérience menée par [Pokrovsky et al. \(2018\)](#) (10 cycles) sur l'effet de ces cycles sur les colloïdes métalliques et la génération de MO de petite taille. Après chaque dégel des substrats, une aliquote homogène de 15 mL est prélevée dans chaque bouteille. Une partie non filtrée de cette aliquote sert à la mesure du

pH et de la conductivité, le reste des 15 mL a été filtré à 0.22 µm et utilisé pour la mesure du COD, l'absorbance des eaux entre 200 et 700 nm et la concentration en éléments traces (ET).

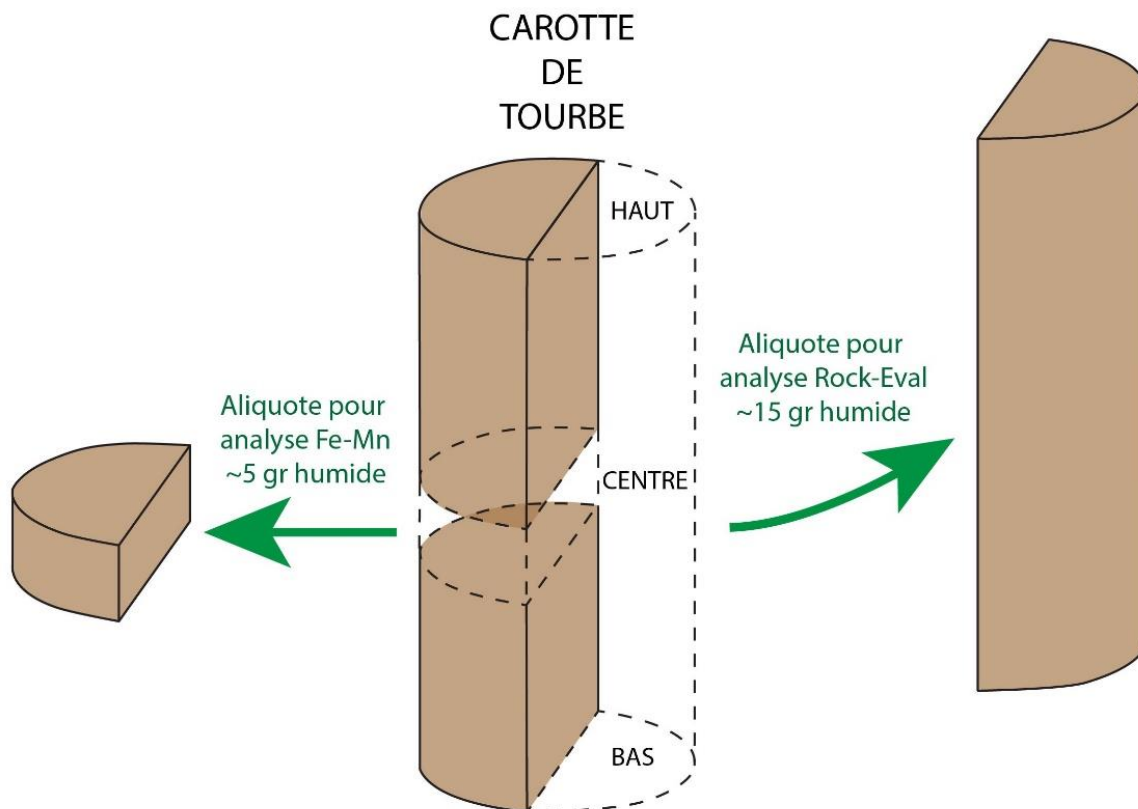
#### 1.2.3.4 Microcosmes en conditions anaérobies (cf. chapitre 5 section 5.2)

Dans cette expérience, un profil de sol provenant de la Sibérie (Khanymey) a été incubé en condition anaérobie afin de déterminer le potentiel de production de gaz à effets de serres (GES) de ce profil. Le profil de sol prélevé durant l'été 2019 comprend du sol allant de la surface à 140 cm de profondeur et où la limite couche active/pergélisol a été identifiée à 45 cm. Il est majoritairement composé d'un horizon organique allant jusque 130 cm de profondeur. Il recoupe un horizon riche en sphaigne (0 à 20 cm), la couche active (de 0 à 45 cm), le pergélisol (de 45 à 140 cm) et un peu d'horizon minéral (entre 130 et 140 cm) (**Figure 1 - 12**). Le profil a été prélevé par tranche de 10 cm, exception faite des niveaux entre 40 et 50 cm qui ont été prélevés par 5 cm (40-45 cm et 45-50 cm) afin de séparer la couche active et le pergélisol. Le profil a été congelé immédiatement après le prélèvement et stocké congelé jusqu'à utilisation pour cette expérience.



**Figure 1 - 12** : Schéma du profil de sol utilisé pour l'incubation anaérobie.

Afin de réaliser une analyse Rock-Eval et de déterminer les concentrations en Fe et Mn (libre et oxydé) tout au long du profil, 15 g de chaque tranche sur la longueur et 5 gr au centre de la tranche ont respectivement été prélevés sur les échantillons congelés (**Figure 1 - 13**).



**Figure 1 - 13 :** Schéma du découpage des aliquotes des carottes de tourbe destinées aux analyses Rock-Eval et Fe-Mn.

Pour les microcosmes, il a été décidé de mélanger certaines tranches du profil (**Figure 1 - 12**) afin d'obtenir une masse suffisante de substrat nécessaire à l'expérience. Ces mélanges ont été soigneusement choisis afin d'obtenir : un substrat provenant de la partie superficielle du profil contenant de la tourbe moins décomposée (entre 0 et 20 cm ; P1), un autre de la couche active contenant de la MO plus dégradée (20 à 40 cm ; P2), un mélange des niveaux bordant la limite entre la couche active et le pergélisol (40 à 50 cm ; P3), deux mélanges à différentes profondeurs dans la couche organique du pergélisol (P4 : 60 à 80 cm et P5 : 90 à 110 cm) et finalement un mélange contenant de l'horizon organique et minéral du profil (120 à 140 cm ; P6). Afin d'homogénéiser ces substrats (P1 à P6), les tranches encore congelées du profil sont sorties du congélateur et placées au réfrigérateur (4 °C) pour une nuit. Le lendemain, les substrats sont homogénéisés manuellement en condition stérile. Dans chaque substrat (P1 à P6) 15 g, 5 g, 50 mg et 3 g sont collectés avant incubation afin de réaliser respectivement des analyses de Rock-Eval, des concentrations de Fe et Mn, de rapport C/N -  $\delta^{13}\text{C}$  -  $\delta^{15}\text{N}$  - CIP (carbone inorganique particulaire). 5 g de chaque mélange ont été ajoutés à 45 mL de NaCl (1 %) afin de réaliser des analyses microbiologiques telles que le dénombrement total des bactéries et la diversité fonctionnelle en suivant la méthodologie

appliquée par [Morgalev et al. \(2017\)](#). Pour ce faire, le mélange NaCl et un substrat homogène ont été mélangés à l'aide d'un agitateur pendant 15 minutes puis centrifugés pendant 4 minutes à 2000 rpm afin de détacher les bactéries du substrat. Les substrats sont incubés en quatre réplicats dans des bouteilles stériles en verre de 150 mL. Chaque substrat contenu dans les bouteilles est mélangé à de l'eau MQ (préalablement bullée avec du diazote, N<sub>2</sub> premier d'Air Products, durant au minimum 30 minutes) en respectant les proportions suivantes : 35 g d'eau MQ bullée pour 25 g<sub>humide</sub> de substrat solide (**Figure 1 - 14**).

Les microcosmes ainsi que les mélanges NaCl et substrats sont alors transportés dans une boîte à gant contenant une atmosphère de diazote à pression atmosphérique. Après trois flushage (remplacement de l'air par du N<sub>2</sub>) consécutifs des bouteilles avec bouchon ouvert dans le sas de la boîte à gants, les bouteilles sont introduites dans la chambre et fermées sous atmosphère de diazote à l'aide d'un septum et d'un bouchon GL45 (Schott®) adapté. Le surnageant du mélange NaCl + substrat est filtré dans la boîte à gant à l'aide d'unités de filtration stériles et de filtres GF/C (Whatman®, diamètre du pore : 1,2 µm, diamètre du filtre : 47 mm). 2 mL du filtrat est fixé par l'ajout d'une goutte de glutaraldéhyde à 25% et environ 13 mL sont réservés pour l'analyse de la diversité fonctionnelle (description en **partie 1.2.4.4**). L'inoculation des Ecoplates se fait dans la boîte à gants en conditions anaérobies qui sont laissés en conditions anaérobies et à l'abri de la lumière pendant 5 jours avant analyse par spectrophotométrie.

Une fois les microcosmes fermés puis sortis de la boîte à gant, ceux-ci sont recouverts de papier aluminium (**Figure 1 - 14**) afin d'éviter l'exposition à la lumière de la matière organique, présente dans les bouteilles en verre, ce qui permet de reproduire les conditions du milieu naturel. Les bouteilles/microcosmes sont placés au réfrigérateur (à 4 °C) sans agitation, ce qui correspond aux températures maximales des sols entre 40 et 80 cm durant l'été ([Morgalev et al., 2017](#)). Les microcosmes sont laissés à 4 °C pendant 1 week-end (2 jours et demi) avant la première analyse des concentrations de gaz à effets de serre (GES).





**Figure 1 - 14** : Photo des incubations anaérobies du profil de sol.

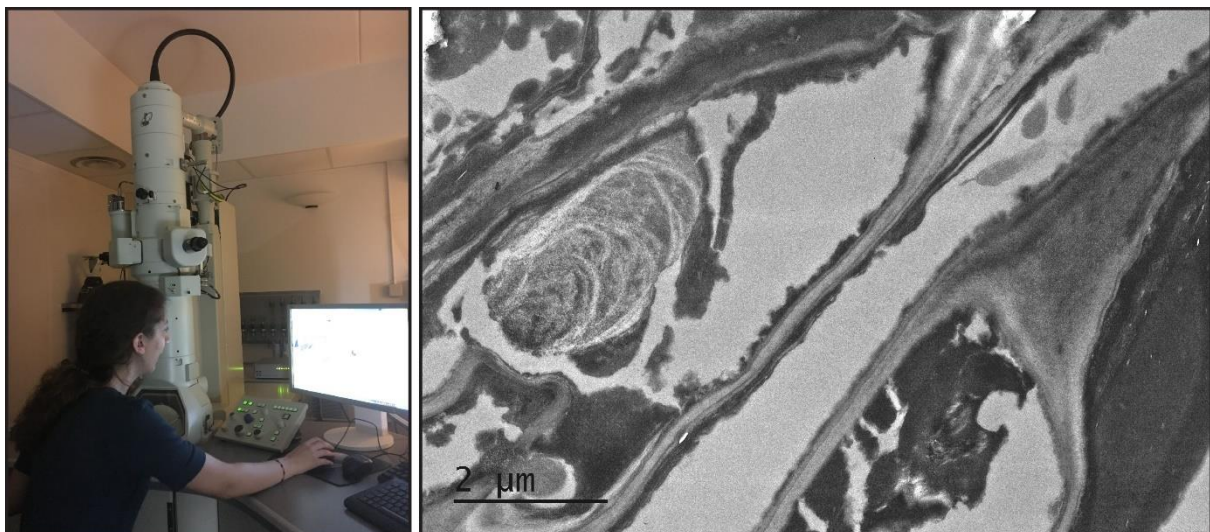
Après le week-end au réfrigérateur, un des quatre réplicats est ouvert, une aliquote de la phase liquide est prélevée pour une mesure de pH et de conductivité, le reste est centrifugé pendant 15 minutes, filtré à 0,45  $\mu\text{m}$  et utilisé pour le dosage du COD, des anions et des acides organiques. Les gaz des 3 microcosmes restants par substrats sont prélevés à l'aide d'une aiguille (de diamètre 0,4 mm) à travers le septum de chaque bouteille. Deux fois 1 mL du gaz contenu dans le headspace de chaque bouteille est prélevé afin de mesurer les concentrations en GES dans les microcosmes à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC). Avant chaque prélèvement, les microcosmes sont doucement agités afin d'équilibrer les concentrations en GES de la phase liquide et de la phase gazeuse. Le traitement des données obtenues après mesure au GC est décrit dans la **partie 1.2.4.3**.

## **1.2.4 Analyses en laboratoire**

### **1.2.4.1 Analyses des phases solides - Microscopie électronique à transmission (MET)**

L'observation des substrats solides au microscope électronique à transmission (MET, JEOL JEM-1400 HC équipé d'une caméra Gatan Orius SC1000B CCD, **Figure 1 - 15**) a été faite après une coloration positive à la Plateforme de Microscopie électronique intégrative METi de l'Université Toulouse 3. Cette coloration positive a été réalisée comme suit : les substrats solides observés sont dans un premier temps fixés par ajout de glutaraldéhyde à 2,5% et de paraformaldéhyde à 2% dans une solution tampon de cacodylate à 0,1 M pendant 2 heures à

température ambiante, puis les échantillons ont été rincés 3 fois avec cette même solution tampon. Lors de l'étape post fixation, les échantillons ont été trempés pendant 1 heure dans du tetroxide d'osmium à 1%. Les échantillons trempés ont ensuite été centrifugés pendant 5 minutes à 800 rpm, le surnageant est alors retiré, et l'échantillon intégré dans de l'agarose. Les échantillons consolidés sont placés dans des cônes Eppendorf et déshydratés dans une série de solution à concentrations croissantes en éthanol (25, 50, 70 and 90% pendant 15 minutes puis 3 fois dans une solution à 100% pendant 30 minutes). Les échantillons dans les Eppendorf ont ensuite été consolidés par de la résine en utilisant le même procédé de concentration croissante avec de la résine époxy (25, 50, 75 % for 1 heure puis 2 fois dans de la résine à 100% pendant 12h). Les échantillons prient dans la résine ont ensuite été polymérisés à 60°C pendant 48h. Des fines sections de 80 nm d'épaisseurs ont été découpées dans les échantillons résineux à l'aide d'un Ultramicrotome (Leica UCT), puis placées sur des grilles de cuivre Formvar enduites de carbone. Finalement, une coloration additionnelle de 15 minutes par un traitement uranyle et 5 minutes par du citrate de plomb a été réalisée.



**Figure 1 - 15:** À gauche: photo du microscope électronique à transmission (MET ; JEOL JEM-1400 HC équipé d'une caméra Gatan Orius SC1000B CCD) de la Plateforme de Microscopie électronique intégrative METi (Université Toulouse 3) à droite: exemple de photo MET de tourbe.

#### **1.2.4.2 Analyses des phases liquides**

##### **a. Paramètres physico-chimiques (pH et conductivité)**

La mesure du pH a été faite (i) au laboratoire du GET (Université Toulouse 3) grâce à un pH-mètre Hanna pH-211 ou bien inoLab-pH7110, (ii) en Suède dans le laboratoire, à l'aide d'un pH-mètre SevenCompact pH/ion (Mettler Toledo).

La mesure de conductivité a été faite (i) au laboratoire du GET (Université Toulouse 3) grâce à un analyseur multi-paramètre Consort C5020 ou bien à l'aide d'un conductimètre Consort C830, (ii) en Suède dans le laboratoire, à l'aide d'un conductimètre SevenCompact Conductivity (Mettler Toledo).

### ***b. Carbone organique et inorganique dissous (COD et CID)***

Les mesures de concentration en carbone organique et inorganique dissous (COD et CID) ont été réalisées par oxydation thermique haute température grâce à un analyseur Shimadzu TOC-VSCN au service de chimie du GET avec une incertitude de 3% et des limites de détections du COD entre 0,47 à 30 ppm et du CID entre 0,57 à 50 ppm.

### ***c. Acides organiques et anions***

Le dosage des acides organiques et des anions a été effectué soit :

- Lors d'une analyse couplé acides organiques / anions réalisée par chromatographie ionique haute performance (Dionex Ics-5000<sup>+</sup>, norme anions : NF EN ISO 10304-1) au laboratoire Ecolab (Université Toulouse 3).
- Lors de l'analyse des anions (non couplé aux acides organiques) réalisée par chromatographie ionique (Dionex ICS 2000) au GET.

### ***d. Spectrophotométrie et indices calculés***

#### **➤ Absorbance des eaux**

L'absorbance des eaux fût mesurée après filtration à 0,45 µm (Minisart®, Sartorius) grâce à un spectrophotomètre UV-visible (Varian-Cary 50 scan double faisceau ou SpectroFlex series 6600 – WTW simple faisceau) entre 200 et 800 nm.

A partir de ces mesures, différents indices relatifs à la caractérisation du carbone organique dissous des eaux peuvent être calculés (SUVA<sub>254</sub>, % d'aromaticité, ratio E2:E4, ratio E4:E6, WAMW, **Tableau 1 - 3**). L'absorbance UV des eaux est souvent utilisée comme substitut du dosage en COD car les substances humiques aromatiques sont les composants majoritaires du COD des eaux naturelles et qu'elles absorbent dans les longueurs des UV ([Edzwald et al., 1985](#)). De plus, les substances humiques peuvent compter jusque 90% de la composition du COD de certains lacs et des tourbières ([Thurman, 1985](#)). Ainsi, le SUVA<sub>254</sub> et le % d'aromaticité donnent tous deux une information sur l'aromaticité de l'échantillon mais ils sont calculés à partir d'absorbance à deux longueurs d'ondes différentes, toutes deux reconnues comme

étant représentative du COD. Il a aussi été suggéré par [Peacock et al. \(2014\)](#) que si le ratio E4:E6 est un indicateur qui devrait être utilisé pour observer des changements temporels, les indices suivant : SUVA<sub>254</sub> et ratio E2:E4 sont eux plus adaptés aux différences de qualité du COD entre différents sites d'étude. Ainsi il a été délibérément choisi de présenter plusieurs indices pouvant sembler redondant dans leurs utilités mais qui sont utilisés de façon complémentaire ou comparés dans les chapitres traitant des différentes expériences et mesures menées (*chapitre 2 à 5*).

**Tableau 1 - 3:** Equations des différents indices calculés à partir des absorbances et fluorescence des eaux (SUVA<sub>254</sub>, % d'aromaticité, ratio E2:E3, ratio E2:E4, ratio E4:E6, MA, WAMW et FI).

Indice	Equation	Utilité	Références
SUVA <sub>254</sub>	$A_{254}/\text{COD}^{(a)}$	Proxy d'aromaticité spécifique	<a href="#">(Abbt-Braun and Frimmel, 1999)</a>
% d'aromaticité	$(0.05*(A_{280}*1000))+6.74$	Aromaticité, C hydrophobique	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
E2:E3	$A_{250}/A_{365}$	Proxy du poids moléculaire apparent et de l'aromaticité	<a href="#">(Peuravuori and Pihlaja, 1997)</a>
E2:E4	$A_{254}/A_{465}^{(a)}$	Proxy d'humification	<a href="#">(Park et al., 1999)</a>
E4:E6	$A_{465}/A_{665}^{(a)}$	Proxy d'humification et du poids moléculaire	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
Absorptivité molaire (MA)	$(A_{280}*1000) / (\text{COD}/12)^{(a)}$	Poids moléculaire	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
WAMW	$(3.99 * \text{MA}) + 490$	Poids moléculaire normalisé	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
FI	$E_{m450}/E_{m500} \text{ (à } E_{x370})^{(b)}$	Origine de la MO (microbienne ou terrestre)	<a href="#">(McKnight et al., 2001)</a>

<sup>(a)</sup> A est l'absorbance spécifique à la longueur d'onde indiquée (nm)

<sup>(b)</sup> Em est l'intensité de l'émission et Ex est l'intensité de l'excitation, toutes les deux aux longueurs d'ondes indiquées (nm)

- **Absorbance spécifique des UV à 254 nm (SUVA<sub>254</sub>)**

L'absorbance UV spécifique (SUVA<sub>254</sub>, L.mg<sup>-1</sup>.m<sup>-1</sup>) décrit pour la première fois par [\(Abbt-Braun and Frimmel, 1999\)](#) puis repris par [Weishaar et al. \(2003\)](#) est un indice calculé à partir de l'absorbance spécifique de l'échantillon à 254 nm et normalisé par sa concentration en

COD (ppm). Cet indice est fortement corrélé au pourcentage d'aromaticité et donc utilisé pour estimer le carbone organique aromatique dissous dans les eaux. Cet indice est ici choisi car il a été décrit comme étant le meilleur proxy du COD des eaux de surfaces (Peacock et al., 2014).

- **% d'aromaticité**

Le % d'aromaticité est calculé à partir de l'absorbance spécifique de l'échantillon à 280 nm. Décrit par Chin et al. (1994), il est un indicateur de l'aromaticité des eaux mais aussi du C hydrophobique de l'échantillon.

- **Ratio E2:E3**

Le ratio E2 :E3 (sans unité) est un indicateur du poids moléculaire et de l'aromaticité des eaux humiques (Peuravuori and Pihlaja, 1997). Il est calculé à partir de l'absorbance spécifique des échantillons aux longueurs d'ondes 250 et 365 nm.

- **Ratio E2:E4**

Le ratio E2:E4 (sans unité) est un indicateur de l'humification utilisé comme comparaison entre les groupes fonctionnels et les « colorés » du COD (Peacock et al., 2014). Il est calculé à partir de l'absorbance spécifique des échantillons aux longueurs d'ondes 254 et 465 nm.

- **Ratio E4:E6**

Le ratio E4:E6 (sans unité) est fréquemment utilisé comme proxy d'humification et de poids moléculaire (Peacock et al., 2014). Il est calculé à partir de l'absorbance spécifique des échantillons aux longueurs d'ondes 465 et 665 nm.

- **WAMW (poids moléculaire normalisé)**

Il est calculé à partir de l'absorptivité moléculaire (MA), elle-même calculée à partir de l'absorbance spécifique à 280 nm et normalisé par le COD divisé par le poids moléculaire du carbone (Chin et al., 1994).

➤ **Indice de fluorescence (FI)**

L'indice de fluorescence (FI) des échantillons a été mesuré par spectrofluorométrie (SpectraMax M5e, Molecular Devices), après ajustement du pH autour de 2 par l'ajout d'acide chlorhydrique (HCl à 1N). En effet à faible pH la plupart des complexes de métaux se dissocient, et donc augmente l'extinction de la fluorescence. Un pH inférieur à 2 inhibe donc cette

extinction due à la complexation des métaux (McKnight et al., 2001). Les longueurs d'ondes utilisées sont celles décrites par Roehm et al. (2009) : excitation à 370 nm et émissions entre 400 et 700 nm avec un pas de 10 nm. Cette indice permet de distinguer la MO d'origine terrestre ( $FI < 1,4$ ) de celle d'origine microbienne ( $FI > 1,4$ ) (Cory et al., 2010; Roehm et al., 2009).

#### ***e. Éléments traces (ET)***

Les échantillons destinés à l'analyse d'éléments traces ont été acidifiés ( $pH=2$ ) à l'aide d' $HNO_3$  ultrapur doublement distillé. Les tubes d'échantillonnage ont été nettoyés à l'aide d' $HCl$  (1N) et rincés à l'eau MQ dans une salle grise de classe ISO 8. Le dosage des ET a été réalisé par ICPMS quadripolaire (Agilent 7500 ce) au GET avec ajout d'un standard interne InRE (Indium – Rhénium) et suivant la méthode OP-EAUX.M utilisée dans ce laboratoire. Le géo-standard international SLRS-5 (Riverine Water Reference Material for Trace Metals, certifié par le Conseil national de recherche du Canada) a été utilisé pour vérifier la validité et la reproductibilité des analyses, c'est aussi un standard qui s'est avéré parfaitement adapté aux eaux des tourbières arctiques et utilisé dans le cadre d'études antérieures (Oleinikova et al., 2017b, 2018a; Pokrovsky et al., 2016).

#### **1.2.4.3 Analyses des phases gazeuses**

Dans cette partie, il a été choisi de regrouper tous les calculs relatifs aux concentrations, productions et isotopies des gaz à effet de serre (GES ; **Tableau 1 - 4**). Rappelons que des mesures *in-situ* des concentrations en  $CO_2$  ont été effectuées sur le terrain (**chapitre 2, section 2.2**) et que deux types d'échantillons contenant une phase gazeuse destinée à l'analyse des concentrations en GES ont été prélevés pour une analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC) : 1/ les prélèvements réalisés sur le terrain (voir **partie 1.2.1.2**) et 2/ les incubations en anaérobies réalisées en laboratoire (voir **chapitre 5, section 5.2**). Si la technique de mesure est la même pour ces deux types d'échantillons *i.e.* mesure GC, le calcul permettant d'obtenir les concentrations et l'isotopie réelle des échantillons varie.

**Tableau 1 - 4 :** Récapitulatif des différentes mesures de GES et calculs effectués durant cette thèse en fonction de l'échantillon et de leurs utilités.

		Terrain		Laboratoire
<b>Type de mesures</b>		<b>Suivi des flux de CO<sub>2</sub> de deux lacs thermokarstiques à différents stades de maturation</b>	<b>Mesure des concentrations en GES des différents plans d'eaux</b>	<b>Expérience d'incubation anaérobie d'un profil de sol</b>
<b>Section descriptive de l'expérience (dans ce chapitre)</b>		Mesure <i>in situ</i>	Prélèvements et mesures GC	
<b>Chapitre traitant des données obtenues</b>		Partie 1.2.2.2	Partie 1.2.1.2	Partie 1.2.3.4
<b>Calcul effectué pour</b>		Chapitre 2 Section 2.2	Chapitre 2 Section 2.2	Chapitre 5 Section 5.2
	<b>Concentration</b>	non	oui	oui
	<b>Production</b>	oui	non	oui
	<b>Isotopie</b>	non	oui	non

**a. Mesure des concentrations de gaz à effet de serre**

Les mesures des concentrations de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse. Le GC utilisé est un GC SRI 8610C. Du diazote ultrapur est utilisé comme gaz porteur. Les pressions du GC sont réglées comme suit : 17 et 5 psi, respectivement pour le gaz porteur et pour l'air. Les températures du détecteur et du four sont respectivement réglées sur 350 et 60 °C. Des étalons de dioxyde de carbone (403,3 ±8,1 ; 997 ±20 et 3000 ±60 ppmV) et de méthane (2,13 ±0,11 et 98,6 ±2,0 et ppmV) sont utilisés afin de tracer une droite de régression linéaire ayant pour abscisse (x) l'aire des pics obtenus par la mesure GC et en ordonnée (y) les concentrations connus des étalons et suivant la méthode des moindres carrés (Eq. 1) avec une origine de la courbe à 0 (b = 0).

$$y = ax + b \tag{Eq. 1}$$

Avec 
$$a = \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sum(x-\bar{x})^2}$$

La pente de cette droite (a) est utilisée pour recalculer les concentrations en GES contenues dans les microcosmes. Le volume d'échantillon gazeux nécessaire à cette mesure est de 1 mL. Pour chaque échantillon, au minimum 2 mesures sont réalisées afin de vérifier la reproductibilité des résultats.

Après avoir obtenus les concentrations mesurées des échantillons par l'utilisation des étalons et de la régression linéaire, quelques ajustements sont nécessaires afin d'obtenir les

concentrations réelles des GES des échantillons. Cette étape est différente pour les deux types d'échantillons gazeux. Néanmoins ces calculs nécessitent tous les deux des données initiales listées ci-dessous et qui vont servir aux calculs des constantes de solubilité du dioxyde de carbone et du méthane :

- La température de l'eau lors du prélèvement ( $T_{\text{eau}}$  en **Kelvin**)
- La température de la seringue lors du prélèvement (*i.e.* de l'air ambiant,  $T_{\text{air}}$  en **Kelvin**)
- La salinité des eaux (ici ce sont des eaux non salines, on pose donc  $S=0$  ‰)
- La pression atmosphérique (ici celle de l'atmosphère,  $P_{\text{atm}} = 101325$  Pa)

Puisque le gaz obtenu lors du prélèvement sur le terrain (**partie 1.2.1.2**) et des incubations (**partie 1.2.3.4**) résulte de l'équilibre des concentrations de GES entre les phases liquides et gazeuses, il convient tout d'abord de calculer les constantes de solubilité des gaz étudiés. Pour cela on utilise la constante de solubilité du  $\text{CO}_2$  ( $k_{\text{HCO}_2}$ , en  $\text{mol.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$ ) décrite par [Weiss \(1974\)](#) (**Eq. 2**) et celle du  $\text{CH}_4$  ( $k_{\text{HCH}_4}$  (en  $\text{mol.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$ ) proposée par [Yamamoto et al. \(1976\)](#) (solubilité de Bunsen, **Eq. 3**).

$k_{\text{HCO}_2} =$

$$\exp^{(-60,2409 + 93,4517(100/T) + 23,3585 \times \ln(T/100) + S(0,023517 - 0,023656(T/100) + 0,0047036(T/100)^2))}$$

**Eq. 2**

$k_{\text{HCH}_4} =$

$$\exp^{(-67,1962 + 99,1624(100/T) + 27,9015 \times \ln(T/100) + S(-0,02909 + 0,041674(T/100) - 0,0064603(T/100)^2))}$$

**Eq. 3**

Avec « T » la température en degrés Kelvin et « S » la salinité en ‰.

Dans le cas des prélèvements effectués sur le terrain, les constantes de solubilité doivent être appliquées à la température de l'eau lors du prélèvement ( $k_{\text{HCO}_2_{\text{eau}}}$  et  $k_{\text{HCH}_4_{\text{eau}}}$ ) et à celle de l'air ambiant lors du prélèvement ( $k_{\text{HCO}_2_{\text{air}}}$  et  $k_{\text{HCH}_4_{\text{air}}}$ ). Dans le cas des incubations anaérobies menées en laboratoires, les constantes de solubilité présentées ci-dessus doivent être appliquées à la température de l'air ambiant lors du prélèvement ( $k_{\text{HCO}_2}$  et  $k_{\text{HCH}_4}$ ).

Le détail des calculs suivant est séparé en fonction du type d'échantillon.



### ➤ *Cas des prélèvements gazeux effectués sur le terrain (partie 1.2.1.2)*

Un échantillon gazeux de l'air ambiant a été collecté tous les jours afin de servir de « blanc » pour les calculs suivants. La mesure des concentrations en GES a été réalisée de la même façon que pour les échantillons provenant de l'eau des lacs, en utilisant le GC et en y injectant 1 mL d'échantillon.

Plusieurs valeurs initiales sont nécessaires à la suite des calculs :

- La température de la seringue lors du prélèvement (*i.e.* de l'air ambiant,  $T_{\text{air}}$  en **Kelvin**)
- La pression atmosphérique (ici celle de l'atmosphère,  $P_{\text{atm}} = 101325 \text{ Pa}$ )
- Le ratio entre le volume de l'échantillon d'eau ( $V_{\text{échantillon\_eau}} = 20 \text{ mL}$ ) dans la seringue et le volume du headspace ( $V_{\text{headspace}} = 30 \text{ mL}$ ), ici le **ratio = 1,5**.
- Pression partielle du  $\text{CO}_2$  et du  $\text{CH}_4$  de l'air ambiant, qui correspond à la concentration obtenue par la mesure GC des échantillons « blancs » ( $p_{\text{CO}_2\_air}$  et  $p_{\text{CH}_4\_air}$  en **ppmV**)
- Les constantes de solubilité calculées plus haut ( $k_{\text{HCO}_2\_eau}$  ;  $k_{\text{HCH}_4\_eau}$  ;  $k_{\text{HCO}_2\_air}$  et  $k_{\text{HCH}_4\_air}$ ).

Le volume molaire des gaz est calculé en utilisant la loi des gaz parfait ( $PV=nRT$ , [Clapeyron \(1834\)](#)) appliquée à la température et à la pression atmosphérique ( $V_{\text{mol}}$  en **mol/L**, **Eq. 4**) :

$$V_{\text{mol}} = (0,082057 + T_{\text{air}}) * \frac{101325}{P_{\text{atm}}} \quad \text{Eq. 4}$$

A partir des équations et des valeurs initiales présentées ci-dessus, les concentrations réelles en GES des eaux du terrain ( $\text{CO}_2_{\text{ech}}$  et  $\text{CH}_4_{\text{ech}}$  en ppm ou mg/L) peuvent être calculées respectivement de la façon suivante (**Eq. 5 a et b**) :

$$\text{CO}_{2\_ech} = \frac{\frac{(p_{\text{CO}_2\_ech} - p_{\text{CO}_2\_air}) \times \text{ratio}}{V_{\text{mol}}} + (p_{\text{CO}_2\_ech} \times k_{\text{HCO}_2\_air})}{k_{\text{HCO}_2\_eau}} \quad \text{Eq. 5a}$$

$$\text{CH}_{4\_ech} = \frac{\frac{(p_{\text{CH}_4\_ech} - p_{\text{CH}_4\_air}) \times \text{ratio}}{V_{\text{mol}}} + (p_{\text{CH}_4\_air} \times k_{\text{HCH}_4\_air})}{k_{\text{HCH}_4\_eau}} \quad \text{Eq. 5b}$$

### ➤ *Cas des incubations anaérobies réalisées en laboratoire (partie 1.2.3.4)*

Les mesures des concentrations en  $\text{CO}_2$  et en  $\text{CH}_4$  des incubations anaérobies sont réalisées les lundis, mercredis et vendredis afin de calculer les productions de GES entre 2

jours de mesures. Mais avant de calculer des productions il faut calculer les concentrations en GES. Plusieurs valeurs initiales sont nécessaires à ce calcul :

- Les volumes de la phase gazeuse ( $V_{\text{headspace}} = 40 \text{ mL}$ ) et de la phase aqueuse ( $V_{\text{aqueux}} = 60 \text{ mL}$ ) dans l'incubation
- $p\text{CO}_2$  et  $p\text{CH}_4$  de l'air ambiant, qui correspond à la concentration obtenue par la mesure GC des échantillons « blancs » ( $p\text{CO}_{2,\text{air}}$  et  $p\text{CH}_{4,\text{air}}$  en **ppmV**)
- Les masses molaires du  $\text{CO}_2$  ( $m_{\text{mol},\text{CO}_2} = 44,0095 \text{ g/mol}$ ) et du  $\text{CH}_4$  ( $m_{\text{mol},\text{CH}_4} = 16,0425 \text{ g/mol}$ )

Afin d'obtenir les concentrations réelles en GES contenus dans les incubations, il faut tout d'abord calculer le nombre de moles de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{CH}_4$  (en nmol) dans le headspace (**Eq. 6 a et b**) et dans la phase aqueuse (**Eq. 7 a et b**). Pour calculer le nombre de moles de GES dans le headspace, la concentration mesurée au GC est multipliée par le volume occupé par le headspace, et le tout est divisé par le volume molaire d'un gaz parfait ( $V_0 = 22,4 \text{ L/mol}$  quand la pression est celle de l'atmosphère  $P_0 = 101325 \text{ Pa}$  et à une température de  $0 \text{ °C}$  soit  $273,15 \text{ °K}$ ).

$$\text{CO}_{2,\text{headspace}} = \frac{p\text{CO}_{2,\text{ech}} \times V_{\text{headspace}}}{22,4} \quad \text{Eq. 6a}$$

$$\text{CH}_{4,\text{headspace}} = \frac{p\text{CH}_{4,\text{ech}} \times V_{\text{headspace}}}{22,4} \quad \text{Eq. 6b}$$

Pour calculer le nombre de moles de GES dans la phase aqueuse, il faut multiplier la concentration mesurée au GC par les constantes de solubilité des gaz et le volume occupé par la phase aqueuse.

$$\text{CO}_{2,\text{aqueux}} = k_{\text{HCO}_2} \times p\text{CO}_{2,\text{ech}} \times V_{\text{aqueux}} \quad \text{Eq. 7a}$$

$$\text{CH}_{4,\text{aqueux}} = k_{\text{HCH}_4} \times p\text{CH}_{4,\text{ech}} \times V_{\text{aqueux}} \quad \text{Eq. 7b}$$

Finalement afin d'obtenir les concentrations totales et réelles des incubations ( $\text{CO}_{2,\text{ech}}$  et  $\text{CH}_{4,\text{ech}}$ , **Eq. 8 a et b**) il est nécessaire d'additionner les moles de GES des deux phases (aqueuse et gazeuse) de diviser le tout par le volume de la phase aqueuse et finalement de multiplier par la masse molaire du GES afin d'obtenir une concentration en mg/L (ou ppm).

$$\text{CO}_{2\_ech} = \frac{(\text{CO}_{2\_aqueux} + \text{CO}_{2\_headspace})}{\frac{V_{aqueux}}{1000}} \times m_{\text{mol\_CO}_2} \quad \text{Eq. 8a}$$

$$\text{CH}_{4\_ech} = \frac{(\text{CH}_{4\_aqueux} + \text{CH}_{4\_headspace})}{\frac{V_{aqueux}}{1000}} \times m_{\text{mol\_CH}_4} \quad \text{Eq. 8b}$$

## b. Calcul des taux de productions

### ➤ Cas des mesures in-situ par chambre flottante (partie 1.2.2.2)

Les données brutes obtenues par les analyses infra-rouges des chambres flottantes contiennent les concentrations en CO<sub>2</sub> accumulées au cours du temps dans la chambre. Ces concentrations cumulées sur 2 heures de temps sont placées en ordonnée (y, en ppm) et le temps en abscisse (x, en s). Les flux sont alors calculés en utilisant la méthode des moindres carrés (Eq. 1) et en ne forçant pas le passage de la droite de régression par 0 ( $b \neq 0$ ). La pente obtenue de cette droite ( $a$ , ici  $d\text{CO}_2/dt$  en  $\text{ppm.s}^{-1}$ ) est le flux de CO<sub>2</sub> mesuré. Chaque chambre flottante placée sur les lacs sert de réplicat à chaque mesure effectuée toutes les 2 heures (voir partie 1.2.2.2).

Afin de calculer les flux réels de CO<sub>2</sub> (CO<sub>2\_flux</sub> en  $\text{gC.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ , Eq. 9) entre les lacs et l'atmosphère il est nécessaire de connaître certaines valeurs :

- La température de l'eau lors de la mesure ( $T_{\text{eau}}$  en Kelvin)
- La pression dans la chambre flottante, donné par les capteurs *in situ* (P en atm)
- La pCO<sub>2</sub> de l'air ambiant (pCO<sub>2</sub>=410 ppm)
- La constante de solubilité du CO<sub>2</sub> (kH<sub>CO2</sub> en  $\text{mol.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$ )
- La hauteur de la chambre flottante (h=0,10 en m)
- La masse molaire du carbone ( $m_{\text{mol\_C}}$ =12 g/mol)

$$\text{CO}_{2\_flux} = \frac{d\text{CO}_2}{dt} \times P \times \text{kH}_{\text{CO}_2} \times 10^3 \times h \times 10^{-6} \times m_{\text{mol\_C}} \times 86400 \quad \text{Eq. 9}$$

### ➤ Cas des incubations anaérobies réalisées en laboratoire (partie 1.2.3.4)

Les mesures des concentrations en GES effectuées les lundis, mercredis et vendredis permettent de calculer les taux de production du CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> et d'obtenir deux taux de production par semaine pouvant être comparés.

Les concentrations réelles des incubations (calculées ci-dessus,  $\text{CO}_2_{\text{ech}}$  et  $\text{CH}_4_{\text{ech}}$ ) sont placées en ordonnée ( $y$ ) et les temps d'incubations en abscisse ( $x$ ). Les taux de productions sont alors calculés en utilisant la méthode des moindres carrés (Eq. 1) et en ne forçant pas le passage de la droite de régression par 0 ( $b \neq 0$ ). La pente de cette droite ( $\alpha$ ) est le taux de production de GES pour chaque incubation entre deux points de mesure.

#### **1.2.4.4 Analyse microbiologique**

##### **a. Dénombrement total des bactéries par coloration DAPI**

Le dénombrement total des bactéries s'effectue grâce à une coloration au 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) selon le protocole décrit par [Porter and Feig \(1980\)](#). Les cellules bactériennes alors colorées sont ensuite filtrées grâce à un filtre noir Nucleopore ayant un diamètre de pores de 0,2  $\mu\text{m}$ , puis les cellules bactériennes piégées sur le filtre noir sont alors comptées sous un microscope à épifluorescence (comptage réalisé par le service d'analyses du centre fédéral pour la recherche Arctique intégrée, à l'Université d'Arkhangelsk).

##### **b. Dénombrement total des bactéries par cytométrie en flux**

Le dénombrement par cytométrie en flux (CMF) consiste à faire circuler un fluide (échantillon) contenant des particules (cellules et bactéries) devant le faisceau lumineux d'un laser, la lumière réémise permet alors la quantification et dans une moindre mesure la classification des populations contenues dans l'échantillon liquide. L'analyse de l'échantillon se fait sur des plaques de 96 puits (Merck) pouvant contenir jusqu'à 250  $\mu\text{L}$  d'échantillons dans chaque puits. Trois étapes préliminaires sont nécessaires avant l'analyse des échantillons : (i) une solution étalon de billes fluorescentes de concentration connue est diluée 20 fois à l'aide d'un diluant certifié (Guava check diluent) et permet de vérifier le bon fonctionnement du comptage par laser. (ii) Un mélange de plusieurs échantillons à analyser est réalisé afin de calibrer l'appareil sur la grande variété de microorganismes pouvant exister dans les différents échantillons à analyser. Deux puits sont alors remplis de ce mélange, à l'un des puits est ajouté 1  $\mu\text{L}$  d'un marqueur, le SYBR GREEN (ThermoFisher), préalablement dilué 10 fois. Le SYBR GREEN est un composé aromatique ( $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{S}$ ) qui se lie aux acides nucléiques et émet une fluorescence. Le passage du mélange d'échantillon sans SYBR GREEN en CMF permet de détecter les particules à fluorescence naturelles (cyanobactéries) puis l'analyse du mélange avec ajout de SYBR GREEN fait apparaître le reste de bactéries contenues dans l'échantillon. La comparaison des deux spectres permet de zoner les fluorescences liées aux bactéries de

celles des cyanobactéries. C'est sur ce principe que fonctionne la classification et la quantification des particules obtenues à partir d'analyse CMF. (iii) Finalement 250 µL de chacun des échantillons est marqué à l'aide d'1 µL de SYBR GREEN (Thermofisher). Le SYBR GREEN est préalablement dilué 10 fois. L'analyseur utilisé est le Guava® easyCyte™ (Merck) dont la limite maximum de quantification des particules est de 10<sup>6</sup> cellules/mL, permettant un comptage optimal des cellules bactériennes. Afin de ne pas atteindre cette limite de détection les échantillons sont préalablement dilués.

### ***c. Dénombrement des colonies formatrices d'unités (CFU)***

Le dénombrement par « spread plate » est utilisé afin de compter le nombre de colonies formatrices d'unités (CFU). Les échantillons liquides sont dilués en cascade (6 à 7 dilutions au maximum) afin d'obtenir un nombre de colonies comptables à l'œil nu. Préalablement un gel d'agar nutritif (gélose nutritive à 2,8% (ISO) de la marque Fischer Scientific Bioblock) est préparé : (i) Sur une plaque chauffante, 28 grammes d'agar en poudre sont mélangés à 1L d'eau milliQ en agitant en continu jusqu'à ébullition du mélange, (ii) le mélange doit bouillir 1 minute puis il peut être retiré de la plaque chauffante, (iii) le mélange encore liquide est placé dans des contenants en verre autoclavables, (iv) ils sont ensuite fermés, puis autoclavés à 121°C pendant 15 minutes. Et finalement en condition stérile, l'agar encore liquide est réparti dans des boîtes de Pétri stériles. Un volume connu de la dernière dilution en cascade des échantillons est ajouté sur les plaques d'agar refroidies. Toutes les boîtes de Pétri sont emballées dans du papier aluminium afin de les « protéger » de la lumière, et stockées pendant 5 jours à température ambiante. Après 5 jours de stockage, les colonies formées sur le gel d'agar sont comptées à l'œil nu.

### ***d. Diversité fonctionnelle***

La diversité fonctionnelle peut être déterminée grâce à l'utilisation d'EcoPlates™ de la marque Biolog (Biolog Inc., Hayward, CA). Une ecoplate est composée de 96 puits contenant 32 substrats différents répliqués 3 fois, dont 1 substrat sert de blanc car composé d'eau (**Figure 1 - S 1**). L'échantillon liquide est tout d'abord filtré à l'aide d'une pompe à vide au travers d'une membrane GF/C (Whatman, diamètre de pores de 1,2 µm), puis 130 µL d'échantillon sont injectés dans chaque puits à l'aide d'une micropipette multicanaux. L'Ecoplate est ensuite « emballée » dans du papier aluminium et stocké à l'abri de la lumière, à 18°C pendant 5 jours. Après 5 jours de stockage la coloration des puits est mesurée par

absorbance à 590 nm (laboratoire Ecolab de l'Université Toulouse 3). Les valeurs de densité optique (DO) obtenues pour les blancs (puits ayant pour substrat de l'eau) sont soustraites aux valeurs de DO de chaque puits, les possibles valeurs négatives sont ensuite ramenées à zéro. L'activité microbienne peut être exprimée par 3 paramètres calculés (Garland, 1996; Gryta et al., 2014; Zak et al., 1994) : (i) la réponse métabolique moyenne d'une communauté microbienne évaluée par le calcul de la coloration moyenne des puits de carbone (AWCD) et calculée comme étant la somme des moyennes de DO corrigées pour chaque source de carbone, divisées par le nombre total de source de carbone n'étant pas des blancs (i.e. 31, Eq. 10). De plus, les indices de (ii) diversité et (iii) d'uniformité de Shannon (H et E) peuvent être calculés comme indiqué ci-dessous (Eq. 11 et Eq. 12).

$$AWCD = \sum \frac{\text{moyenne}(DO_i - DO_{\text{blanc}})}{31} = \sum \frac{\text{moyenne}(DO_{i,\text{corrigé}})}{31} \quad \text{Eq. 10}$$

$$H = - \sum p_i (\ln p_i) \quad \text{Eq. 11}$$

$$E = H/H_{\text{max}} \quad \text{Eq. 12}$$

avec «DO » : densité optique et  $p_i$  le développement de couleur du puits « i » proportionnel à celui de tous les puits. « AWCD » signifie Average Well Colour Development, « H » est l'indice de diversité de Shannon, et « E » est l'indice d'uniformité de Shannon.

### 1.2.5 Statistiques

Tous les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel R (version 3.5.2 ou 3.6.1). Le **Tableau 1 - 5** présente les différents packages utilisés pour chaque type de test. La plupart des informations relatives aux tests statistiques présentés ci-dessous proviennent d'ouvrages dédiés aux « Statistiques appliquées avec introduction au logiciel R » (Marchal, 2018) et dans le « Guide pratique à la méthode des composantes principales pour R » (Kassambara, 2017).

**Tableau 1 - 5** : Liste de packages R utilisés pour chaque tests statistiques.

Test statistique	Packages R
Test de distribution normale des données	
Test de student (test t)	« stats » et « stats4 »
Régression linéaire	
Test ANOVA	
ACP (Analyse en Composante Principale)	« FactoMineR », « Factoextra » et « missMDA »
Boxplot	« ggplot2 »

### **1.2.5.1 Hypothèse nulle, p-value et seuil de confiance**

Tous les tests statistiques se basent sur une hypothèse nulle ( $H_0$ ). Très souvent cette hypothèse nulle est celle d'une égalité (moyenne, médiane, variance etc.) entre un modèle connu et les données testées (ou bien entre deux jeux de données). La probabilité que les données testées et le modèle connu soient identiques ou différentes est donnée par la **p-value**. Lorsque la p-value  $> 0,05$  alors cela signifie que l'hypothèse nulle est vérifiée et que les données testées ne sont pas significativement différentes du modèle connu. A l'inverse, si la p-value  $< 0,05$  alors l'hypothèse nulle est rejetée et on peut dire que les données testées sont significativement différentes du modèle connu. La limite de 0,05 est déterminée par le seuil de confiance du test. Ce seuil de confiance est fixé par défaut sur le logiciel R à 0,95, 'est -à-dire que lorsque la p-value est  $< 0,05$  on peut être certain à 95% que la différence entre nos données et le modèle est significative. Ce seuil peut être changé manuellement et descendu par exemple à 90%. Dans ce manuscrit de thèse, tous les seuils de confiance ont été laissés à 0,95. A noter, l'interprétation de la p-value est différente dans le cas des régressions linéaires. Pour plus de détails cf. **section 1.2.5.6**.

### **1.2.5.2 Tester la distribution des données**

Vérifier la distribution des données avant de réaliser d'autres tests statistiques est important car la plupart de ces tests reposent sur l'hypothèse d'une distribution normale des données.

Afin de vérifier que la loi normale (ou modèle Gaussien) est bien respectée, on utilise un test de **Shapiro-Wilk**. D'autres tests existent afin de vérifier cette normalité (e.g. test de Kolmogorov-Smirnov, ou test de Jarque-Bera) mais le test de Shapiro-Wilk est le plus utilisé et il est aussi très simple à réaliser et à interpréter à l'aide du logiciel R. Ici, l'hypothèse nulle est la suivante : «  $H_0$  = les données testées suivent une répartition normale ». Sous R, la formule à utiliser est la suivante : « `shapiro.test()` ». Le logiciel renvoie alors la p-value qui valide ou non l'hypothèse nulle.

### **1.2.5.3 Test de student (ou test t)**

Un **test de student** est un test qui nécessite une répartition normale des données. La formule « `t.test` » du logiciel R, qui réalise le test de student, ne vérifie pas la normalité des données, il est donc nécessaire de réaliser un test de Shapiro-Wilk avant un test de student.

Le test de student sert (entre autres et particulièrement dans le cadre de cette thèse) à comparer deux moyennes issues de deux groupes suivant des lois de distributions normales. L'hypothèse nulle est ici : «  $H_0$  = les deux groupes ont des moyennes égales ». La formule à utiliser est « `t.test()` ». Le logiciel renvoie alors la p-value qui valide ou non l'hypothèse nulle. Les groupes testés peuvent être composés d'un nombre d'individus différents.

#### **1.2.5.4 Test ANOVA à un facteur**

Le **test d'ANOVA** (pour « ANalysis Of Variance ») à un facteur permet de comparer l'écart moyen d'une mesure quantitative entre plusieurs groupes (grandeur qualitative). Afin de réaliser un test ANOVA, il est nécessaire de vérifier que : *i)* au sein de chaque groupe, les données suivent une loi de répartition normale (*i.e.*, il faut tester les données à l'aide du test de Shapiro-Wilk), *ii)* que toutes les mesures soient indépendantes entre elles et *iii)* que le modèle contienne une hypothèse d'homoscédasticité (*i.e.* la variance est supposée être la même dans tous les groupes). Les groupes testés peuvent être composés d'un nombre d'individus différents.

L'hypothèse nulle de ce test est : «  $H_0$  = **toutes** les moyennes des groupes sont égales ». La formule à utiliser est la suivante : « `avov()` ». Afin d'obtenir les résultats de ce test, il faut appliquer la formule « `summary()` » à celle indiquée précédemment. Le logiciel renvoie alors la p-value qui valide ou non l'hypothèse nulle. Il faut noter que si l'hypothèse nulle d'égalité des moyennes entre les groupes est rejetée (*i.e.* p-value < 0.05), cela peut signifier qu'un seul groupe seulement est significativement différent des autres. On peut alors tester les groupes 2 par 2 à l'aide d'un test de student afin de déterminer quel est le groupe différent des autres.

#### **1.2.5.5 Analyse en composantes principales (ACP)**

L'**analyse en composantes principales (ACP)** permet de résumer et de visualiser les informations d'un jeu de données d'individus / d'observations décrit par des variables quantitatives inter-corrélées multiples. Cette analyse est utile lorsque le jeu de données comporte plus de 3 variables. L'ACP est utilisée afin d'extraire les informations les plus importantes d'un jeu de données multivariées et les exprime selon de nouvelles variables appelées « composantes principales ». Les groupes testés doivent avoir le même nombre d'individus. Dans le cas où le nombre d'individus n'est pas le même dans les groupes, on peut utiliser le package « MissMDA ». Ce package permet d'imputer les valeurs manquantes au jeu de données, de sorte que les valeurs imputées n'influencent pas les résultats de l'ACP.



Le formule R à utiliser pour réaliser une ACP est : « `PCA()` ». Afin d'obtenir une représentation dite en biplot (permettant à la fois de visualiser la répartition des individus et des variables selon les composantes principales) la formule à appliquer à celle de l'ACP est « `fviz_pca_biplot()` ». Un exemple de cette représentation et de son interprétation est présenté dans le **chapitre 3**.

#### **1.2.5.6 Régression linéaire simple**

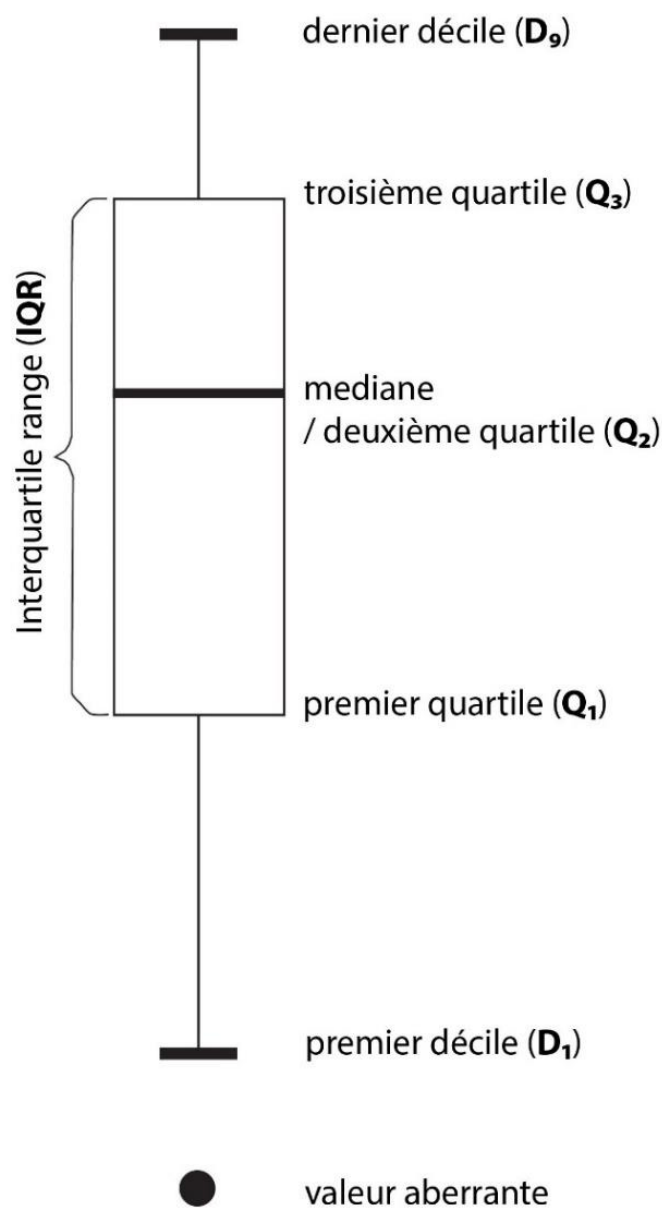
La **régression linéaire simple** indique si un couple de données ( $X_i$  et  $Y_i$ , en abscisse et en ordonnée) peut être décrit comme étant le résultat de l'équation linéaire suivant : «  $y = ax + b$  » où «  $a$  » est la pente de la courbe et «  $b$  » son ordonnée à l'origine. Ces données (à la fois  $X_i$  et  $Y_i$ ) ne doivent pas nécessairement suivre une loi normale. La formule à utiliser dans la logiciel R est la suivante : « `lm()` ». Afin d'obtenir les résultat de cette régression linéaire, il faut appliquer la formule « `summary()` » à celle indiquée précédemment. Le logiciel renvoie alors plusieurs informations relatives à la régression linéaire : l'ordonnée à l'origine, la pente, le coefficient de corrélation linéaire ( $R^2$ ) et la p-value.

Le coefficient de corrélation linéaire ( $R^2$ ) est toujours compris entre 0 et 1. Il représente la dépendance linéaire entre 2 variables, plus l'une des variables peut être représentée par une fonction affine, plus le  $R^2$  sera proche de 1. Il faut toutefois noter qu'un  $R^2$  nul n'indique pas forcément une indépendance des données. Il indique uniquement que les variables ne sont pas linéairement dépendantes l'une de l'autre, d'autres modèles peuvent alors expliquer cette dépendance. Dans le cas de la régression linéaire, la p-value renvoyée par le logiciel est  $< 0,05$  si la relation linéaire entre les deux variables est significative (*i.e.* les données sont corrélées de façon linéaires). Les groupes testés doivent avoir le même nombre d'individus.

#### **1.2.5.7 Représentation graphique des données : Boxplot (la boîte à moustaches)**

Le **boxplot** ou « boîte à moustaches » (**Figure 1 - 16**) est un type de diagramme permettant de visualiser et de comparer des caractères quantitatifs communs à plusieurs groupes. Il est constitué d'une partie centrale nommée IQR (Interquartile range) qui contient 50 % des données représentées et qui est bornée par le premier et le troisième quartile ( $Q_1$  et  $Q_3$ ). La valeur médiane des données et représentée par le deuxième quartile ( $Q_2$ ) et située dans l'IQR. L'IQR est prolongé de deux « moustaches » atteignant les valeurs du premier et du dernier décile ( $D_1$  et  $D_9$ ). Ces moustaches peuvent avoir une longueur maximum de 1,5 fois l'IQR, mais

cela ne signifie pas forcément que  $D_1$  et  $D_9$  se situeront respectivement à «  $Q_1 - 1,5 \cdot IQR$  » et «  $Q_3 + 1,5 \cdot IQR$  ». Très souvent  $D_1$  et  $D_9$  sont placés sur la valeur du jeu de donnée se rapprochant le plus des valeurs maxima théoriques des moustaches, sans jamais les dépasser. Si des valeurs du jeu de données sont situées à l'extérieur du premier ou du dernier décile alors ceux sont des valeurs dites aberrantes et elles sont représentées par des points situés à l'extérieur du boxplot. Dans le logiciel R, la fonction « `geom_boxplot()` » permet de créer un diagramme en boxplot.



**Figure 1 - 16 :** Schéma d'une représentation en boxplot des données.

# ***Chapitre 2***

## ***Le terrain – Observation du système naturel complexe***

# *Introduction*

Les concepts évoqués dans le **chapitre 1**, et plus précisément dans la **section 1.1**, sont des informations générales données sur les tourbières nordiques. Cependant, dans le cadre de cette thèse, nous nous intéressons à 3 sites en particulier. Et pour mieux appréhender les différences qu'il peut exister entre ces sites, au cours de ma première année de thèse, 2 missions de terrain ont été réalisées. La première en juillet 2018 sur le site de Khanymey en Sibérie Occidentale et la deuxième en octobre de la même année sur le site d'Abisko en Suède arctique. Ces deux sites ont fait l'objet d'une étude détaillée par des chercheurs de l'équipe de Biogéochimie expérimentale du GET dont les résultats ont été publiés par [Shirokova et al., \(2013\)](#) et [Pokrovsky et al., \(2018\)](#), respectivement pour le site de Khanymey et celui d'Abisko. Un troisième site, la toundra Bolshezemelskaya (BZT) située en Russie Européenne, fait aussi l'objet d'étude de cette thèse. Ce site est aussi étudié depuis plusieurs années par les membres de l'équipe Biogéochimie expérimentale, et les échantillons rapportés lors de leurs missions de terrain ont été utilisés afin de réaliser les expériences de laboratoire présentées dans cette thèse.

Ce chapitre contient 2 sections. La **section 2.1** présente les 3 sites d'étude de cette thèse (**sous-section 2.1.1**) et traite des données physico-chimiques et biologiques des eaux récoltées durant les 2 missions de terrains (**sous-section 2.1.2**). Certaines de ces données ne seront pas discutées dans cette section car elles le sont dans d'autres parties du manuscrit de thèse (notamment dans les articles publiés ou soumis). Dans ce cas, une indication sera donnée sur la section du manuscrit qui traite de ces interprétations et discussions. La **section 2.2**, traite d'une expérience de suivi réalisée sur le terrain de Khanymey et visant à étudier les cycles journaliers du carbone, des nutriments et des métaux dissous dans les eaux humiques de deux lacs thermokarstiques. Cette section est en anglais car elle reprend un article publié en 2020 dans le journal « Science of the Total Environment ».

## ***Section 2.1***

# ***Sites d'étude et analyses des eaux prélevées en Sibérie et Suède***

### 2.1.1. Présentation des sites d'étude

Les trois sites d'étude de cette thèse sont : la Sibérie Occidentale, la Russie Européenne et la Suède (**Figure 2 - 1**). Tous ces sites se situent à plus de 60° de latitude Nord et les sites de Suède et de Russie Européenne se situent au Nord du cercle polaire arctique (au-delà de 66°33'47,445'' de latitude Nord). Plusieurs faits ont motivé le choix de ces trois sites d'étude pour cette thèse. Tout d'abord, de manière pratique, ces sites sont étudiés par les membres de l'équipe de Biogéochimie expérimentale du GET depuis plusieurs années et de fortes collaborations existent avec les équipes de recherche des différents pays travaillant sur ces terrains : en Russie Européenne à Arkhangelsk avec l'Institut des problèmes écologiques du Nord ; en Sibérie occidentale avec le laboratoire BIO-GEO-CLIM de l'Université de Tomsk et finalement en Suède avec le département des Sciences de l'environnement et de l'écologie de l'Université d'Umeå et le centre de recherche sur l'Impact du climat (CIRC). D'un point de vue plus scientifique, ces sites ont aussi été choisis car ils présentent tous la forme de pergélisol la plus vulnérable face au réchauffement climatique (Romanovsky et al., 2010) : un pergélisol discontinu (**Figure 2 - 1** ; Schuur et al., (2008)).

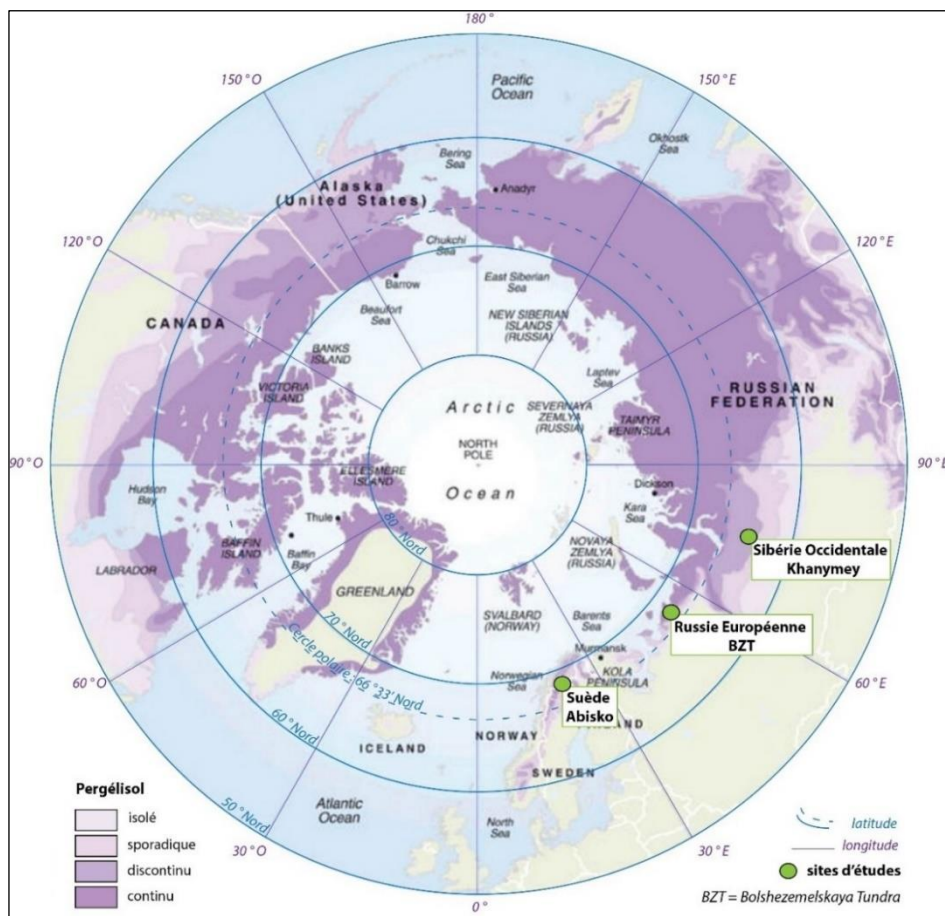


Figure 2 - 1: Localisation des sites d'étude (carte modifiée à partir de Schuur et al. (2008))

De plus, ils possèdent des zones étendues de tourbières stockant de grandes quantités de carbone organique piégé (Hugelius et al., 2014; Schuur et al., 2015) dans le pergélisol et susceptible d'être réintroduit dans le cycle du carbone sous l'effet du changement climatique (Grosse et al., 2011; Turetsky et al., 2019). Les caractéristiques géographiques, climatiques, de sol et de végétation spécifiques à chaque site sont détaillées ci-dessous.

#### **2.1.1.1. Sibérie Occidentale - Khanymey**

En Sibérie Occidentale, le site choisi se situe à 63°47' N et 75°32' E dans le district d'Iamal, près du village nommé « Khanymey ». Le nom de ce village sera utilisé dans la suite de cette thèse pour désigner ce site d'étude. La température moyenne annuelle de l'air est de -3,6°C avec des moyennes en juillet (en été) de 15,8°C et en février (en hiver) de -25,1°C. Les précipitations annuelles moyennes sont de 436 mm (pluie et neige). Cette région présente une topographie très plate de tourbières, d'après les cartes établies par Peregon et al. (2009) se basant initialement sur les données cartographiques publiées par Romanova et al. (1977) et sur un traitement d'image satellite de moyenne résolution spatiale. La zone d'étude se situe en zone de pergélisol discontinu (Raudina et al., 2018). La couche active a une épaisseur moyenne pouvant aller de 90 cm sous les bosses à plus de 200 cm sous les dépressions (Loiko et al., 2019). Au niveau des dépressions et des zones de marais, la couche active peut parfois atteindre l'horizon minéral du sol, à l'inverse au niveau des bosses, la couche active n'affecte que l'horizon organique du sol. Dans cette région à faible topographie, seules les zones aux abords des rivières et des ruisseaux pérennes présentent un sol dépourvu de permafrost. La couche supérieure du sol est composée d'un horizon organique de tourbe faisant 0,1 à 1,5 m d'épaisseur (Raudina et al., 2018). L'horizon minéral de la zone est un sable Pléistocène pouvant contenir quelques dépôts argileux-silteux (Klinova et al., 2012). Le site est localisé dans une forêt boréale, dont la végétation est dominée par des arbustes nains (*Ledum ssp.*, *Betula nana*, *Andromeda polifolia*, *Vaccinium ssp.*, *Empetrum nigrum*), des lichens (*Cladonia ssp.*, *Cetraria*, *Ochrolechia*) et des mousses sur les bosses, alors que les dépressions et les fissures dues au gel-dégel sont couvertes par des associations de mousses et de carex (graminés : *Eriophorum russeolum*, *E. vaginatum* ; carex : *C. rotundata*, *C. limosa*, *Menyanthes trifoliata*, *Comarum palustre* ; mousses : *S. balticum*, *S. majus*, *S. lindbergii*, *S. warnstorffii* et *dwarf shrubs Oxycoccus palustris*) et de la sphaigne (Raudina et al., 2018).

### **2.1.1.2. Russie Européenne – Bolshezemelskaya Tundra (BZT)**

En Russie européenne, le site d'étude se situe dans la toundra nommée « Bolshezemelskaya », ainsi dans la suite du manuscrit, nous ferons référence à ce site d'étude selon le nom de cette toundra ou par son acronyme « BZT », pour Bolshezemelskaya Tundra. Cette toundra se situe entre les rivières Pechora (rivière Européenne ayant le plus haut taux de décharge sédimentaire dans l'Océan Arctique, [Tockner et al., 2009](#)) et Usa, à l'Est et au Sud, et l'Oural polaire à l'Est. Plus précisément, les points de prélèvement des échantillons se situent à 67°35' N et 53°54' E. La température moyenne de l'air est de -3,1°C et les précipitations moyennes annuelles sont de 503 mm ([Shirokova et al., 2019](#)). La BZT est une plaine formée par des moraines vallonnées, le pergélisol y est discontinu à sporadique. L'altitude moyenne varie entre 100 et 150 m au-dessus du niveau de la mer. La couche supérieure du sol est composée d'un horizon organique de tourbe reposant sur un horizon minéral composé majoritairement de sables, de silts et de graviers. La végétation dominante est typique d'une toundra et composée de mousses, de lichens et d'arbustes nains.

### **2.1.1.3. Suède - Abisko**

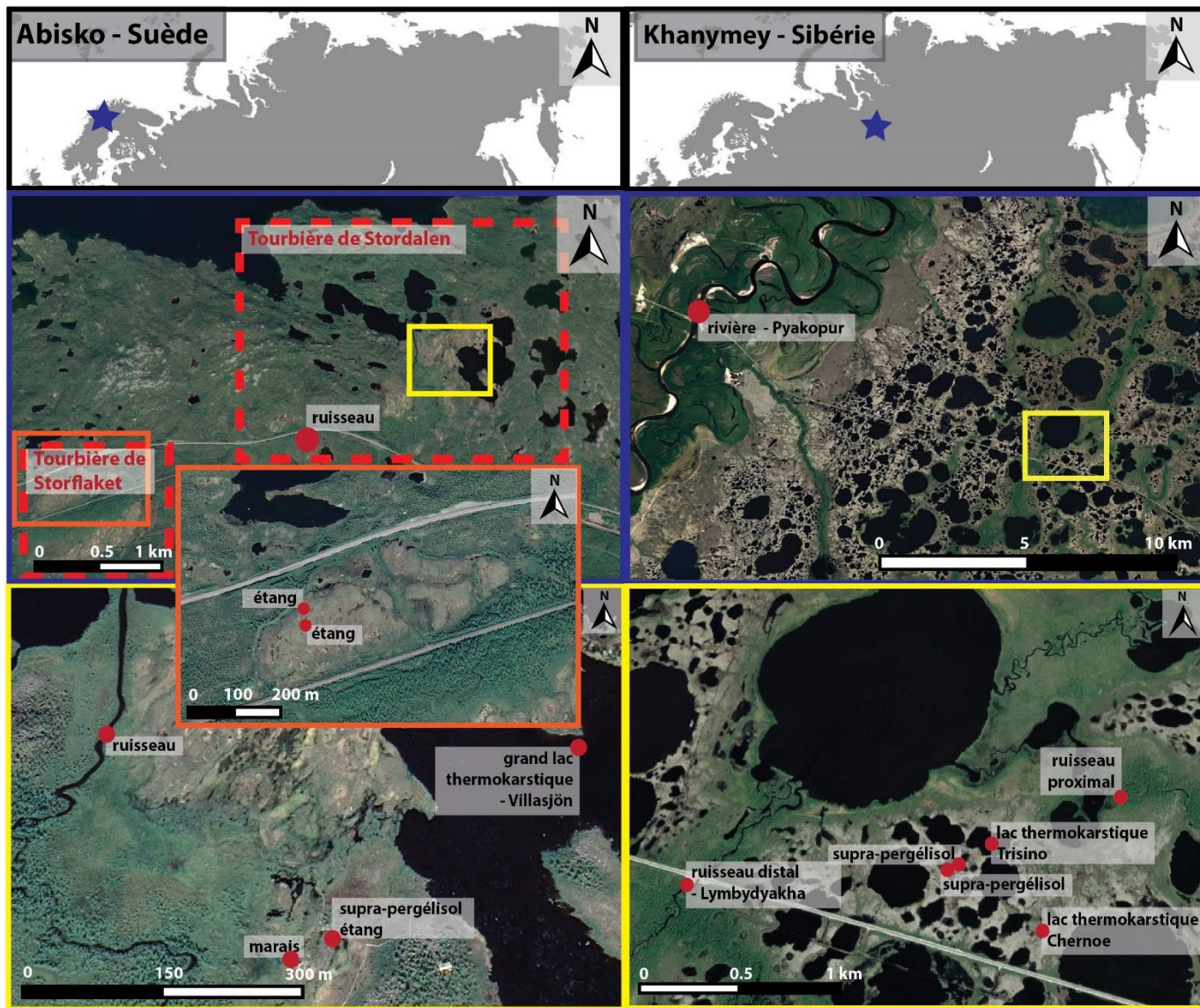
En Suède, le site choisi se situe à 68°21' N et 19°02' E près du village nommé « Abisko ». Ce site d'étude fait partie du Climate Impact Research Center (CIRC) géré par l'Université d'Umeå. Deux tourbières sont identifiables sur ce site : celle de « Stordalen » au Nord de la route et celle de « Storflaket » au Sud de celle-ci. Dans la suite de ce manuscrit, lorsqu'il sera nécessaire, les deux tourbières seront identifiées par leurs noms, si cela ne l'est pas, nous ferons appel au site d'étude de la Suède sous le nom d'Abisko. La température moyenne annuelle est de -0,7°C ([Kohler et al., 2006](#)), les précipitations annuelles moyennes sont de 299 mm ([Petrescu et al., 2007](#)). Le site d'Abisko est en zone de pergélisol discontinu. La couche active du sol varie entre 0,5 et 1 m de profondeur au cours de l'année ([Åkerman and Johansson, 2008](#); [Klaminder et al., 2008](#)). Le sol est composé de 0,5 m de tourbe ([Malmer et al., 2005](#)) recouvrant un substrat minéral composé de sédiments lacustres silteux d'origine glaciaire ([Klaminder et al., 2008](#)). Les tourbières d'Abisko sont des pelses ombrotrophiques (dont l'eau provient exclusivement des précipitations) entourées par des marais, des ruisseaux et des lacs peu profonds minérotrophiques (dont l'eau provient exclusivement du ruissellement souterrain et/ou de surface) semi-humides à humides. La végétation est dominée par des zones de forêts boréales et des zones de tourbières avec parfois un sol rocheux affleurant. La zone humide est caractérisée par des zones de plaines à arbustes, des



zones contenant de la sphaigne ou des carex et des zones de tourbières. Dans les zones dites de tourbières, les lichens (*Cladonia* spp. et *Cetraria* spp.), les mousses (*Sphagnum balticum* (Russ.) C. Jens.) ainsi que *Eriophorum vaginatum* et *Empetrum hermaphroditum* dominent la végétation des mounds (appelé « hummocks » dans cette région)., alors que les dépressions sont colonisées majoritairement par de la végétation de type graminées telles que des *Carex* (*C. rotundata*, *E. vaginatum* et *E. angustifolium*) et des mousses (*S. balticum*, *S. fuscum* et *Bryatae*) (Malmer et al., 2005).

### **2.1.2. Missions de terrain – les données récoltées**

Durant cette thèse, 2 campagnes de terrain ont été menées, en juillet 2018 en Sibérie occidentale et en octobre 2018 en Suède. Le site de La Russie Européenne n'a pas fait l'objet d'une campagne de terrain durant cette thèse, mais une partie des échantillons utilisés lors des expériences en laboratoire proviennent de campagnes précédentes (2017) menées par l'équipe sur ce site. La mission réalisée en Sibérie de l'ouest a duré 2 semaines et a été en partie financée par le réseau de recherche des régions arctiques nommée INTERACT (compagne 2018, projet BIOCARSIB). La logistique et le matériel de terrain furent prodigués par des collègues de l'Université d'État de Tomsk (TSU). Durant cette mission, 20 plans d'eau ont été prélevés et analysés, comprenant des eaux du supra-pergélisol, d'étangs, de lacs thermokarstiques, de ruisseaux et de rivières (**Figure 2 - 2** et **Tableau 2 - 1**). La mission réalisée en Suède arctique a duré 1 mois, dont 2 semaines et demie passées sur le terrain d'Abisko. Cette mission de terrain fût financée par le programme de mobilité internationale de l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier (projet BioCarZA). La logistique et le matériel furent prodigués par le département des Sciences de l'Écologie et de l'Environnement de l'Université d'Umeå et par le CIRC (Climate Research Impact Center). Sur ce site, deux tourbières distinctes séparées par une route nationale sont présentes, la tourbière de Stordalen et celle de Storflaket. Neuf plans d'eaux ont été prélevés : 7 sur la tourbière de Stordalen (des eaux provenant du supra-pergélisol, d'étangs, de marais, de lacs thermokarstiques et de ruisseaux) et 2 sur la tourbière de Storflaket (des étangs) (**Tableau 2 - 1**).



**Figure 2 - 2 :** Carte de la localisation des grands plans d’eaux prélevés sur le terrain en Suède (gauche) et en Sibérie (droite). Tous les points d’eaux prélevés en Sibérie ne sont pas répertoriés sur cette carte mais la liste de tous ces plans d’eaux est reportée dans le **tableau 2 – 1**.

**Tableau 2 - 1 :** Paramètres physico-chimiques et biologiques des eaux de surface prélevées (à 10 cm de profondeur environ) et filtrées à 0,45 µm sur les terrains de la Sibérie et de la Suède.

ID	Site - Tourbière	Type de plan d'eau	latitude (N)	longitude (E)	pH E	Conductivité µS cm <sup>-1</sup>	pCO <sub>2</sub> ppm	DIC mg L <sup>-1</sup>	TBC cellules mL <sup>-1</sup>
a	Suède/Abisko - Stordalen	supra-pergélisol	68° 21' 5.66"	19° 4' 36.36"	5,7	100	26478	3,8	2,08E+04
b		supra-pergélisol	68° 21' 5.66"	19° 4' 36.36"	4,1	57	*	2,5	3,76E+04
c		étang	68° 21' 5.66"	19° 4' 36.36"	4,6	27	25362	1,7	2,31E+04
d		étang (marais)	68° 21' 11.94"	19° 2' 48.25"	6,6	26	9578	1,8	1,80E+04
e		grand lac thermokarstique	68° 21' 5.66"	19° 4' 36.92"	7,2	34	580	2,3	1,17E+04
f		ruisseau	68°21'24.88"	19°2'29.68"	6,7	57	1370	4,6	4,74E+03
g		ruisseau	68° 21' 1.3"	19° 0' 58.32"	7,2	51	1200	4,3	2,26E+03
h	Suède/ Abisko - Storflaket	étang	68°19'60"	18°58'10.2"	5,9	48	10124	2,7	
i		étang	68°20'47,58"	18°58'10.079"	4,2	50	15997	3,1	
TKH1	Sibérie - Khanymey	rivière	63°49'41.85"	75°23'27.05"	6,3	30	2842	2,5	4,13E+05
TKH2		ruisseau	63°47'3.02"	75°37'5.16"	6,1	20	2210	1,9	1,54E+06
TKH3		ruisseau	63°47'17.7"	75°39'44.7"	5,5	14	4960	0,9	5,04E+05
TKH4		supra-pergélisol	63°47'05.2"	75°38'39.8"	3,7	59	12750	1,5	1,60E+06
TKH5		supra-pergélisol	63°47'05.7"	75°38'42.3"	3,9	40	*	0,8	1,93E+06
KH1		lac thermokarstique	63°47'10.1"	75°38'23.3"	4,0	13	54	0,7	8,22E+05
KH2		lac thermokarstique	63°47'07.6"	75°38'39.1"	4,2	19			3,14E+05
KH3		lac thermokarstique	63°47'07.1"	75°38'39.5"	3,9	19		0,6	
KH4		lac thermokarstique	63°46'58.2"	75°39'15.2"	4,1	15	190	0,6	
KH5		lac thermokarstique	63°46'56.9"	75°39'12.4"	3,8	28	620	0,8	7,08E+05

(\*) indique que la pCO<sub>2</sub> mesurée était supérieure à 30 000 ppm, soit la limite supérieure de mesure de la sonde utilisée sur le terrain. Les cases vides indiquent une absence de données (mesure in-situ non réalisée ou échantillon non prélevé pour l'analyse de ces paramètres). TBC = « Total bacterial count » soit le nombre total de bactéries dénombrées dans l'échantillon en cellules mL<sup>-1</sup> (par la méthode de cytométrie en flux).

Tableau 2 – 1 (suite) :

ID	Site - Tourbière	Type de plan d'eau	latitude (N)	longitude (E)	pH E	Conductivité $\mu\text{S cm}^{-1}$	pCO <sub>2</sub> ppm	DIC mg L <sup>-1</sup>	TBC cellules mL <sup>-1</sup>
KH6		grand lac thermokarstique	63°47'08.4	75°39'00.7"	4,0	18	330	0,6	5,79E+05
KH7		grand lac thermokarstique	63°48'09.3	75°33'15.4"	4,1	13	1120	0,6	7,73E+05
KH8		grand lac thermokarstique	63°47'54.2	75°33'22.3"	3,9	18	490	0,6	7,06E+05
KH9	Sibérie - Khanymey	grand lac thermokarstique	63°47'53.8	75°33'04.8"	3,9	22	560	0,6	6,54E+05
KH10		grand lac thermokarstique	63°47'53.8	75°33'03.9"	4,3	17	620	0,6	9,52E+05
KH11		étang	63°47'48.8	75°33'12.3"	3,9	32	560	0,6	5,07E+05
KH12		étang	63°47'48.0	75°33'13.9"	3,8	30	930	0,7	8,78E+05
KH13		lac thermokarstique	63°47'00.6	75°39'38.9"	3,8	19		0,6	4,76E+05
KH14		grand lac thermokarstique	63°47'58.2	75°33'45.4"	4,2	10		0,7	1,07E+06
KH15		lac thermokarstique	63°47'53,6"	75°32'53,5"	4,6	20		0,5	1,44E+06
KH16		étang	63°47'55,5"	75°32'56,2"	4,5	27		0,7	7,86E+05
KH17		lac thermokarstique	63°47'57,9"	75°32'55,9"	4,2	20		0,6	2,84E+05
KH18		lac thermokarstique	63°47'56,7"	75°32'51,9"	4,6	28		0,7	6,96E+05

(\*) indique que la pCO<sub>2</sub> mesurée était supérieure à 30 000 ppm, soit la limite supérieure de mesure de la sonde utilisée sur le terrain. Les cases vides indiquent une absence de données (mesure in-situ non réalisée ou échantillon non prélevé pour l'analyse de ces paramètres). TBC = « Total bacterial count » soit le nombre total de bactéries dénombrées dans l'échantillon en cellules mL<sup>-1</sup> (par la méthode de cytométrie en flux).

### **2.1.2.1. Paramètres physico-chimiques et biologiques généraux des eaux prélevées sur le terrain**

Les eaux d'Abisko sont moins acides que celles de Khanymey avec des pH respectifs allant de 4,1 à 7,2 et de 3,7 à 6,3 (**Tableau 2 - 1**). Cette différence peut être attribuée au type de végétation dominante des deux sites (cf **sous-section 2.1.1**) et donc aussi à la composition de la tourbe sous-jacente. Le site d'Abisko a une végétation majoritairement dominée par la sphaigne alors qu'à Khanymey, ce sont les lichens qui dominent. Il a été démontré que la sphaigne est très résistante à la décomposition ([Golovatskaya and Nikonova, 2013](#)) notamment du fait de la composition des parois de ses cellules hyalines constituées de cellulose, de composés phénoliques et de polymères lipidiques ([Aerts et al., 1999](#); [Tsuneda et al., 2001](#); [van Breemen, 1995](#)). Le lessivage de la sphaigne induira donc un pH des eaux moins bas que celui engendré par le lessivage des lichens. Sur les deux sites, le pH est plus acide dans les eaux du supra-pergélisol ( $3,7 < \text{pH} < 5,7$ ) et augmente avec la taille des plans d'eaux devenant quasiment neutre dans les ruisseaux et rivières (5,5 à 7,2). Cette différence peut être liée aux fortes concentrations en acides organiques dans les eaux du supra-pergélisol (cf **partie 2.1.2.2**). Les concentrations en carbone inorganique dissous (CID) des eaux du supra-pergélisol et de surfaces n'excèdent pas  $4,6 \text{ mg L}^{-1}$  (**Tableau 2 - 1**). La conductivité des eaux de surface d'Abisko varie entre 27 et  $57 \mu\text{S cm}^{-1}$  et celle des eaux de Khanymey est plus faible, allant de 14 à  $32 \mu\text{S cm}^{-1}$  (**Tableau 2 - 1**). Pour les deux sites, les conductivités les plus élevées sont atteintes dans les eaux provenant du supra-pergélisol : jusqu'à  $59 \mu\text{S cm}^{-1}$  à Khanymey et  $100 \mu\text{S cm}^{-1}$  à Abisko. La pression partielle de  $\text{CO}_2$  ( $\text{pCO}_2$ ) des eaux a pu être mesurée pour tous les plans d'eau d'Abisko et pour certains plans d'eau de Khanymey (**Tableau 2 - 1**). On remarque que les  $\text{pCO}_2$  les plus élevées ( $> 30\,000 \text{ ppm}$ ) sont atteintes pour les eaux du supra-pergélisol. Ces eaux atteignent facilement la limite de détection de  $30\,000 \text{ ppm}$  du matériel utilisé sur le terrain. Les étangs de Suède ont des  $\text{pCO}_2$  pouvant atteindre  $10\,000 - 15\,000 \text{ ppm}$  sur la tourbière de Storflaket et  $25\,000 \text{ ppm}$  sur celle de Stordalen. Les eaux des ruisseaux et rivières ont des  $\text{pCO}_2$  bien plus faibles et comprises entre  $1\,200$  à  $4\,960 \text{ ppm}$ . Finalement, le dénombrement des cellules bactériennes révèle une concentration plus importante de bactéries dans les échantillons des eaux de Khanymey ( $10^5$  à  $10^6 \text{ cellules mL}^{-1}$ ) comparée à celles d'Abisko ( $10^3$  à  $10^4 \text{ cellules mL}^{-1}$ ) (**Tableau 2 - 1**). Cette différence peut être due à la prolifération des bactéries durant les périodes d'été (période de prélèvement sur le site de Khanymey : juillet) et à la mort d'une partie de la communauté à l'approche de la période

hivernale (prélèvement à Abisko réalisé en octobre). Même s'il a été démontré par [Vigneron et al. \(2019\)](#) que le nombre de procaryotes dans les eaux de lacs thermokarstiques ne varie pas de façon significative entre l'été et l'hiver, l'épisode bref de gel des eaux ayant eu lieu quelques jours avant le terrain réalisé sur le site d'Abisko est peut-être responsable du faible nombre de micro-organismes mesuré.

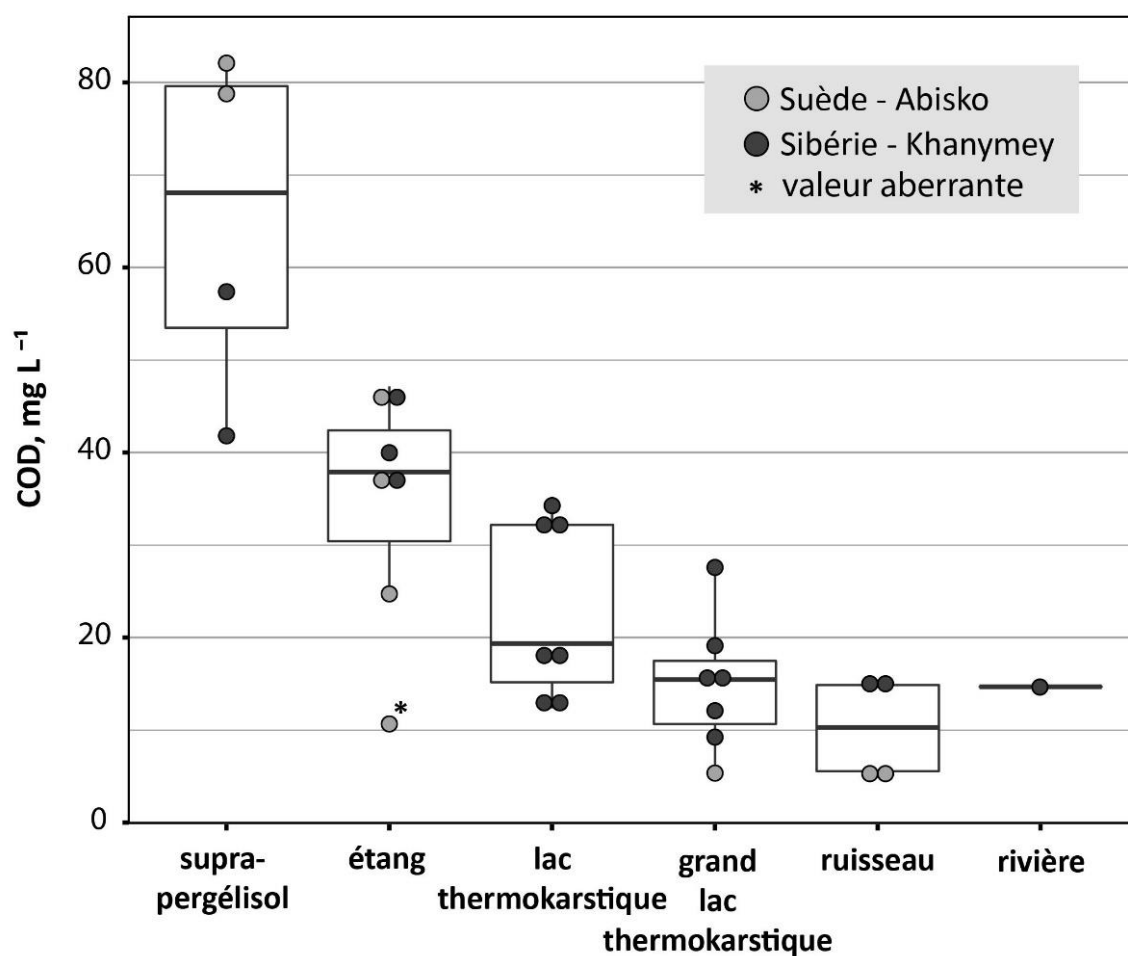
### **2.1.2.2. Matière organique dissoute**

#### **a. Répartition des concentrations en carbone organique dissous des eaux étudiées**

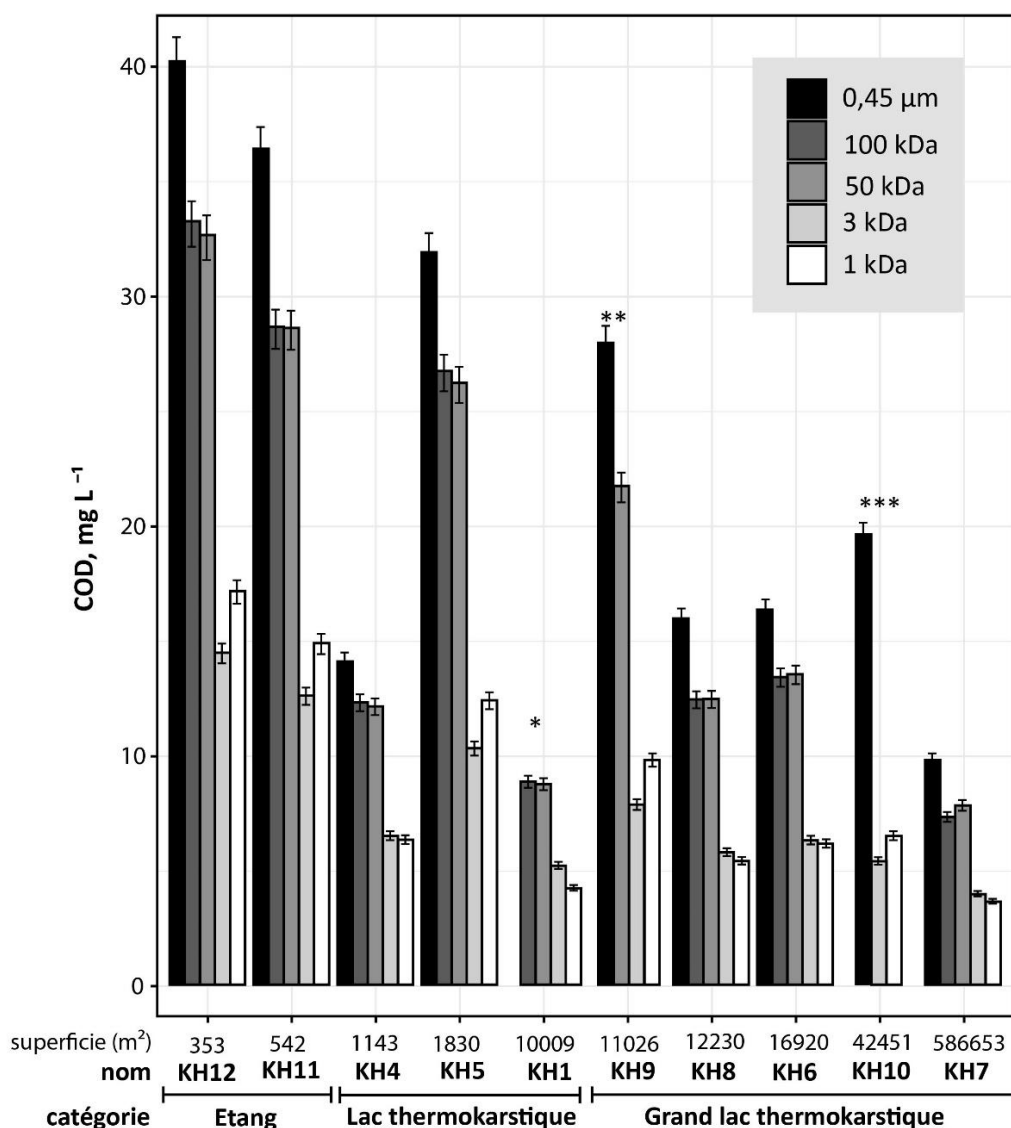
Il a été démontré que les concentrations en carbone organique dissous (COD) des eaux de surface dans les régions de tourbières à pergélisol diminuent avec la taille des plans d'eau ([Payandi-Rolland et al., 2020b](#); [Shirokova et al., 2013](#)). En compilant les données obtenues lors des deux campagnes de terrain réalisées au cours de cette thèse, cette observation reste valable. En effet, sur les deux sites, les concentrations en COD (**Figure 2 - 3**) sont comprises entre 40 et 80 mg L<sup>-1</sup> dans les eaux provenant du supra-pergélisol. Dans le cas des eaux provenant d'étangs (< 1 000 m<sup>2</sup>), les concentrations en COD varient entre 25 et 48 mg L<sup>-1</sup> avec une valeur aberrante à 11 mg L<sup>-1</sup> qui correspond à l'eau prélevée dans un marais du site d'Abisko (classé dans la catégorie « étang » de par sa faible profondeur et sa taille, valeur marquée d'une « \* » dans la **Figure 2 - 3**). Les lacs thermokarstiques (1 000 à 10 000 m<sup>2</sup>) et les grands lacs thermokarstiques (> 10 000 m<sup>2</sup>) ont des concentrations en COD respectives qui varient de 12 à 35 mg L<sup>-1</sup> et de 6 à 28 mg L<sup>-1</sup>. Finalement, les eaux des ruisseaux ont des concentrations en COD de 6 à 15 mg L<sup>-1</sup>, et la seule rivière prélevée (*i.e.* la rivière Pechora en Sibérie) a une concentration de 15 mg L<sup>-1</sup>.

Le COD regroupe toutes les tailles de composants carbonés d'origine organique pouvant être filtrés à 0,45 µm ([Greenberg et al., 1985](#)). Ces composés carbonés dissous peuvent former par agrégations physiques et chimiques des « colloïdes » de matière organique. Des ultrafiltrations (*i.e.* filtration des eaux en utilisant un diamètre de pore inférieur à 0,45 µm) permettant de déterminer la présence de colloïdes ont été réalisées sur une partie des eaux naturelles de Sibérie (sur ce site uniquement), plus précisément sur des eaux provenant des étangs, des lacs thermokarstiques et des grands lacs thermokarstiques (**Figure 2 - 4**). En étudiant la répartition du COD, par ultrafiltration à 100, 50, 3 et 1 kDa (cf. **chapitre 1, partie 1.2.1.3**), on remarque qu'il y a peu de différence entre les concentrations obtenues à 100 et à 50 kDa, ou encore entre celles obtenues à 3 et à 1 kDa (**Figure 2 - 4**). Cette répartition permet

de confirmer les répartitions présumées du COD en fonction des groupes suivants : la fraction à faible poids moléculaire (LMW<sub><3 kDa</sub> : low molecular weight, taille < 3 kDa) et les deux groupes de colloïdes : celui à haut poids moléculaire (HMW<sub>50 kDa – 0,45 μm</sub> : high molecular weight) et celui à faible poids moléculaire (LMW<sub>3-50 kDa</sub>) (Pokrovsky et al., 2018). De ces trois groupes, le groupe LMW<sub>3-50 kDa</sub> contient la plus grande proportion de COD (en moyenne 44 ± 4 % sur tous les types de plans d'eau), suivi par la fraction LMW<sub><3 kDa</sub> (35 ± 6 %) et finalement, le groupe de colloïdes à haut poids moléculaire représente 19 ± 3 % du COD (Tableau 2 - 2).



**Figure 2 - 3 :** Concentration en COD sur le site de Khanymey et d'Abisko, des différents types de plans d'eau prélevés, présentée sous forme de boxplot. La boîte contient 50 % des données et l'épaisse barre horizontale indique la médiane des données, les moustaches s'étendent jusqu'au données les plus extrêmes.



**Figure 2 - 4 :** Répartition des concentrations en COD des eaux du site de Khanymey en fonction de la superficie et de la catégorie des plans d'eau. La filtration (0,45 µm) et les ultrafiltrations (100, 50, 3 et 1 kDa) des eaux sont indiquées par les différentes colonnes en tons de gris. Pour certaines eaux, des données sont manquantes pour les filtrations à (\*) 0,45 µm, (\*\*) 100 kDa et (\*\*\*) 100 et 50 kDa. Les barres d'erreurs représentent l'erreur liée à la mesure (3 %).

**Tableau 2 - 2 :** Moyenne des pourcentages de concentration en COD des différents groupes d'ultrafiltration (HMW<sub>50 kDa - 0,45 µm</sub>, LMW<sub>3-50 kDa</sub> et LMW<sub><3 kDa</sub> en %) par rapport au COD total (concentrations à 0,45 µm) de chaque type de plans d'eau (étang, lac thermokarstique et grand lac thermokarstique) et de tous les plans d'eau confondus (« tous plans d'eau »).

Ultrafiltration	HMW (50 kDa - 0,45 µm)	LMW (50 - 3 kDa)	LMW fraction (< 3 kDa)
Etang (n=2)	20 ± 1	45 ± 1	35 ± 1
Lac thermokarstique (n=2)	16 ± 2	45 ± 5	39 ± 7
Grand lac thermokarstique (n=4)	20 ± 2	44 ± 4	34 ± 5
Tous plans d'eau (n=8)	19 ± 3	44 ± 4	35 ± 6



### ***b. Composition et origine de la matière organique dissoute***

Les eaux de Khanymey et d'Abisko ont des indices  $SUVA_{254}$  compris entre 2,9 et 5,7 L mgC<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> (**Tableau 2 - 3**). Ces valeurs élevées indiquent une forte proportion de composés carbonés aromatiques dans les eaux ([Abbt-Braun and Frimmel, 1999](#)) et donc une dominance de la matière organique dissoute (MOD) d'origine allochtone provenant de la tourbe. Les valeurs d'indice de fluorescence (FI, uniquement disponible pour le site d'Abisko) obtenues pour les étangs des deux tourbières ainsi que pour une des deux eaux de supra-pergélisol, sont toutes inférieures à 1,4 (**Tableau 2 - 3**), ce qui semble indiquer que ces eaux sont dominées par une MO d'origine allochtone (sols et végétation). Ce constat semble logique car les eaux contenues dans le supra-pergélisol et les petits plans d'eau sont majoritairement approvisionnées par le lessivage de la tourbe et de la végétation. À l'inverse, les eaux du grand lac thermokarstique et des ruisseaux ont un FI supérieur à 1,4, elles semblent donc dominées par une MO d'origine autochtone (microbienne) ([Cory et al., 2010](#); [Roehm et al., 2009](#)). Malheureusement, le dénombrement bactérien ainsi que la mesure des acides organiques des eaux de la tourbière de Storflaket n'ayant pas été réalisés, il nous est impossible d'étayer ce constat.

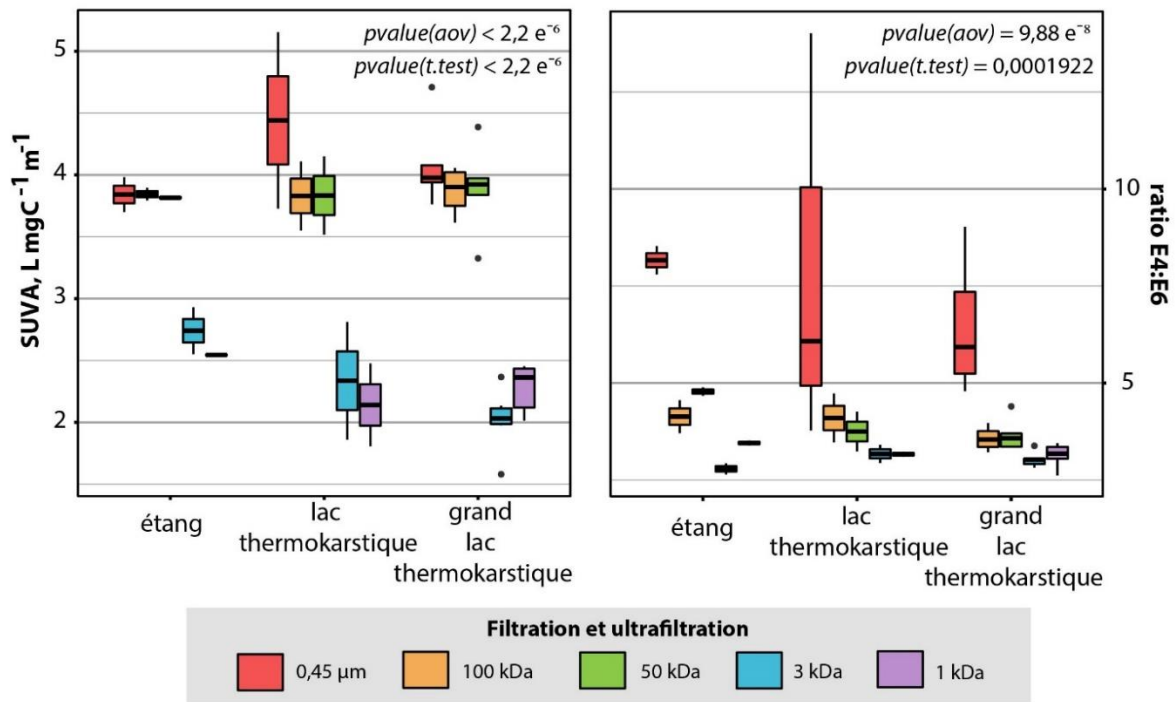
En observant la répartition des composés aromatiques dans les différents groupes d'eaux filtrées à l'aide de l'indice  $SUVA_{254}$  (**Figure 2 - 5**), on note que les groupes à fort poids moléculaire (> 3 kDa) concentrent les molécules aromatiques alors que les groupes à faible poids moléculaire (< 3 kDa) possèdent des molécules de types aliphatiques. De plus, les groupes d'acides humiques ayant une taille moléculaire proche de 2 600 Da ([Garcia-Mina, 2006](#)), il est normal d'observer des ratios E4:E6 plus faibles dans les groupes d'eaux ultrafiltrées < 3 kDa. En effet, de faibles valeurs du ratio E4:E6 indiquent une humification de la MOD ([Park et al., 1999](#); [Peuravuori and Pihlaja, 1997](#)).

La composition du COD des eaux du supra-pergélisol est étroitement liée à la composition du carbone dans les horizons du sol ([Prokushkin et al., 2010](#)). Ce constat est ici soutenu par la dominance d'une MOD d'origine allochtone dans les eaux du supra-pergélisol et des étangs (FI < 1,4, **Tableau 2 - 3**) qui reçoivent leurs eaux du lessivage de la tourbe et de la végétation. De plus, les sols affectés par le pergélisol sont la source d'une grande quantité de carbone organique labile ([Ma et al., 2019](#)) et les travaux d'[Ewing et al. \(2015\)](#) et de [Drake et al. \(2015\)](#) ont montré qu'une grande partie du COD est composée d'acides organiques à faible poids moléculaire. Comme on peut le voir dans le **Tableau 2 - 4**, où sont reportées les concentrations

en acides organiques des eaux prélevées sur les 2 sites d'étude, les acides organiques majoritairement présents dans tous les types de plans d'eau sont : le lactate, l'acétate, le formate, le butyrate et l'oxalate. Dans des proportions bien plus faibles, on note la présence de pyruvate, de glutarate, de malate, de tartrate, de phtalate et de citrate. De plus, les eaux du supra-pergélisol sont plus riches en acides organiques (centaines à milliers de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que les eaux de surface sur les deux sites. C'est notamment le cas pour le lactate, l'acétate, le formate, le butyrate, le propionate et le galacturonate. Cette composition en acides organiques des eaux mesurée sur le terrain est présentée et discutée plus en détail dans le **chapitre 3**.

**Tableau 2 - 3 :** Propriétés optiques de la matière organique dissoute : l'absorbance UV spécifique à 254 nm (**SUVA<sub>254</sub>**) et l'indice de fluorescence (**FI**) des eaux (mesuré par excitation à 370 nm et calculé par le rapport des émissions obtenues à 450 et 500 nm).

ID	Site - Tourbière	Type de plan d'eau	SUVA <sub>254</sub> , L mgC <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup>	FI
a		supra-pergélisol	3,4	1,44
b		supra-pergélisol	4,2	1,52
c		étang	4,9	1,31
d	Suède - Stordalen	étang	4,0	1,38
e		grand lac thermokarstique	2,9	1,74
f		ruisseau	3,4	1,71
g		ruisseau	3,1	2,24
h		étang	5,0	1,30
i	Suède - Storflaket	étang	4,4	1,35
TKH1		rivière	5,7	
TKH2		ruisseau	4,7	
TKH3		ruisseau	4,4	
TKH4		supra-pergélisol	4,3	
TKH5		supra-pergélisol	4,1	
KH3		lac thermokarstique	4,4	
KH4		lac thermokarstique	3,7	
KH5		lac thermokarstique	5,2	
KH6		grand lac thermokarstique	4,1	
KH7		grand lac thermokarstique	3,8	
KH8	Sibérie - Khanymey	grand lac thermokarstique	3,9	
KH9		grand lac thermokarstique	4,7	
KH10		grand lac thermokarstique	4,0	
KH11		étang	3,7	
KH12		étang	4,0	
KH13		lac thermokarstique	3,8	
KH14		grand lac thermokarstique	3,1	
KH15		lac thermokarstique	5,3	
KH16		étang	5,3	
KH17		lac thermokarstique	3,5	
KH18		lac thermokarstique	4,6	



**Figure 2 - 5 :** Boxplots de l'indice SUVA<sub>254</sub> et du ratio E4:E6 dans les différents groupes d'eaux ultrafiltrées des différents types de plans d'eau du site de Khanymey.

### 2.1.2.3. Répartition des éléments traces métalliques dissous dans les eaux étudiées

Les eaux des régions boréales et arctiques, et particulièrement les rivières, sont connues pour contenir et transporter de grandes quantités d'éléments traces métalliques (ETM) (Chupakov et al., 2020; Krickov et al., 2019; Pokrovsky et al., 2020). Les eaux des 2 sites étudiés sont chargées d'éléments traces (ET) divers (Tableau 2 - 5), dont ceux qui ont les plus grandes concentrations sont : le sodium, le magnésium, l'aluminium, la silice, le potassium, le calcium et le fer. On retrouve aussi, dans des proportions plus faibles, du manganèse, du cuivre, du zinc et du strontium. En observant la répartition des concentrations en ET en fonction de celles en COD, on remarque que parmi les éléments mesurés, seuls les suivants sont significativement corrélés avec le COD ( $pvalue < 0,05$ ) : As, Pb, Fe, Co, Ni, Cu, Al et Y. De plus, dans les eaux filtrées à 0,45 µm, les concentrations en aluminium et en fer sont aussi significativement corrélées entre elles (Figure 2 - 6). C'est un constat fréquent car la forte concentration en MOD des eaux (eaux humiques) des régions arctiques ainsi que le pH (bas) de ces eaux favorisent la forme colloïdale de la plupart des ETM (Ingri et al., 2000; Pokrovsky et al., 2006; Pokrovsky and Schott, 2002; Garcia-Mina, 2006). Ainsi les ETM tels que l'aluminium et le fer sont souvent liés à la matière organique colloïdale

**Tableau 2 - 4 :** Concentrations ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) en acides organiques des eaux prélevées en Suède et en Sibérie. « n.a. » indique que l'espèce n'est pas présente ou pas détectée, et « 0 » indique une concentration inférieure à la limite basse de détection (comprise entre 0 et  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

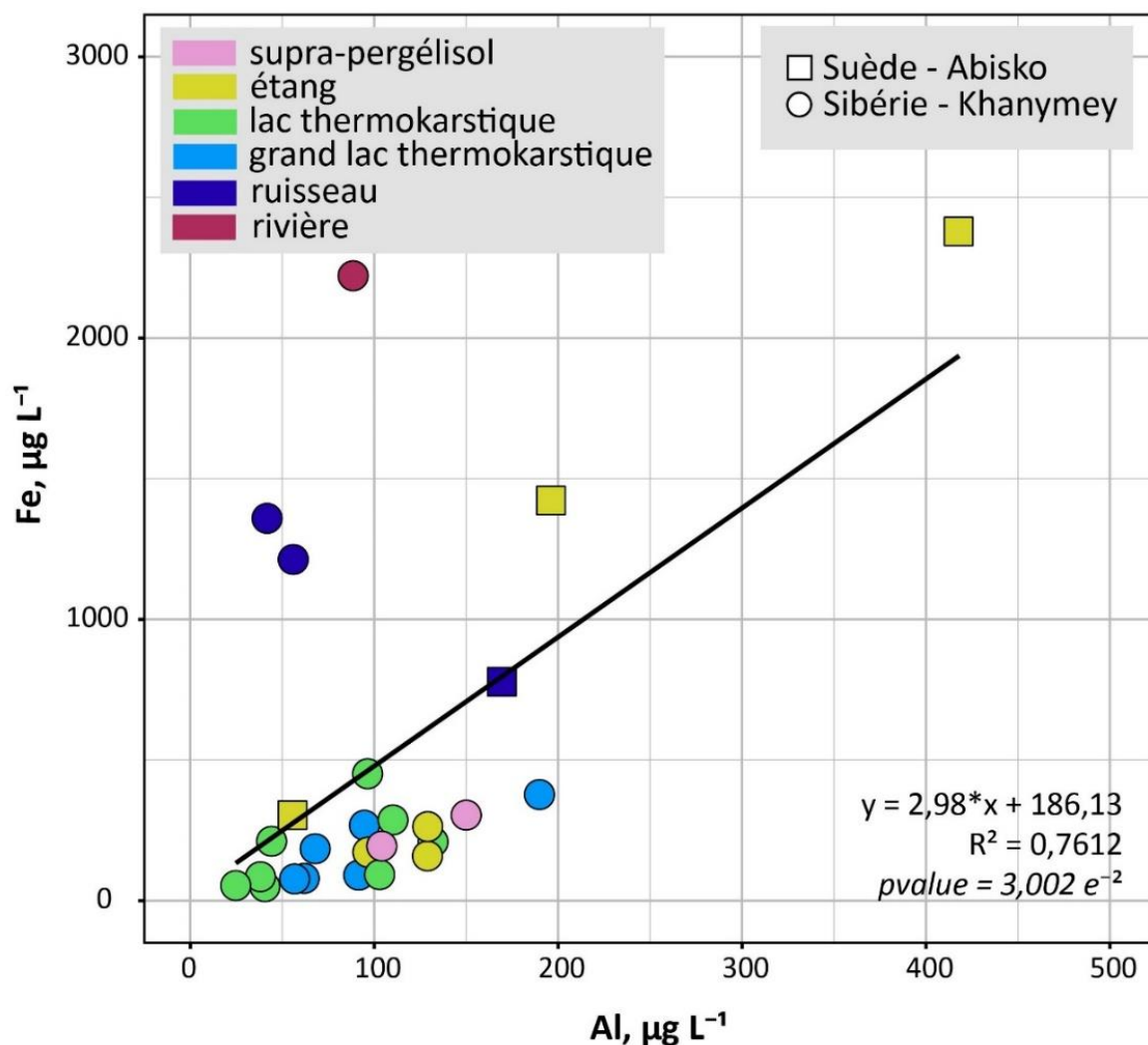
Site - Tourbière	Suède - Stordalen							Sibérie - Khanymey						
	supra-pergélisol	supra-pergélisol	étang	étang	grand lac thermokarstique	ruisseau	ruisseau	rivière	ruisseau	ruisseau	supra-pergélisol	supra-pergélisol	lac thermokarstique	grand lac thermokarstique
ID	a	b	c	d	e	f	g	TKH1	TKH2	TKH3	TKH4	TKH5	KH5	KH6
Quinate	n.a.	9	6	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Lactate	68	1588	954	n.a.	141	12	12	41	n.a.	16	392	38	67	17
Acetate	2813	20	1	1	9	1	1	n.a.	1	1	1	3	4	3
Propionate	1130	1	n.a.	n.a.	1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Formate	227	10	7	4	4	4	4	4	4	5	9	7	8	6
Butyrate	1177	30	10	14	n.a.	2	2	n.a.	n.a.	n.a.	5	n.a.	2	n.a.
Pyruvate	n.a.	25	10	n.a.	11	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	7	8	9	7
Galacturonate	333	9	8	n.a.	n.a.	11	11	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Glutarate	30	n.a.	3	n.a.	n.a.	1	1	n.a.	n.a.	n.a.	2	n.a.	n.a.	n.a.
Malate	3	3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0	n.a.	n.a.	n.a.
Tartrate	15	7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Oxalate	72	31	14	9	8	10	10	8	7	7	20	16	12	10
Phtalate	n.a.	21	n.a.	6	38	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Citrate	11	86	17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

**Tableau 2 - 5** : Concentrations ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) en élément trace (ET) des eaux prélevées. (\*) indique une donnée incohérente.

ID	Sites	Types de plans d'eau	Na	Mg	Ca	K	Si	P	As	Pb
a		supra-pergélisol	1314,0	964,5	3211,0	418,3	5479,0	20,7	1,2	0,4
c	Suède - Stordalen	étang	1094,0	513,0	1041,0	108,0	3163,0	7,2	0,4	0,2
d		étang	1986,0	790,2	3655,0	1392,0	1178,0	3,8	0,4	0,0
g		ruisseau	1544,0	1583,0	6996,0	913,5	3965,0	5,2	0,1	0,1
h	Suède - Storflaket	étang	784,6	949,2	1814,0	10,1	3697,0	10,7	0,2	0,3
TKH1		rivière	2762,0	1082,0	3120,0	387,4	4178,0	104,9	0,6	0,2
TKH2		ruisseau	1244,0	908,8	2094,0	298,3	603,6	80,1	0,7	0,2
TKH3		ruisseau	507,6	663,9	1402,0	101,2	2074,0	106,9	0,5	0,1
TKH4		supra-pergélisol	1368,0	191,2	263,7	511,8	974,0	48,2	0,4	0,5
TKH5		supra-pergélisol	829,7	139,3	324,5	343,4	3197,0	14,3	0,6	0,5
KH1		lac thermokarstique	272,7	177,2	63,4	47,4	78,0	*	0,3	0,1
KH3		lac thermokarstique	181,7	186,7	16,2	31,2	68,3	*	0,3	0,1
KH4		lac thermokarstique	481,2	174,7	*	57,5	73,2	*	0,2	0,1
KH5		lac thermokarstique	321,9	366,3	540,2	43,8	143,0	27,6	0,5	0,4
KH6		grand lac thermokarstique	368,5	197,9	131,2	39,3	85,0	*	0,3	0,1
KH7	Sibérie - Khanymey	grand lac thermokarstique	337,8	178,1	389,9	65,2	264,1	*	0,4	0,0
KH8		grand lac thermokarstique	283,4	184,2	161,5	97,0	213,0	*	0,2	0,1
KH9		grand lac thermokarstique	285,3	186,5	130,0	71,4	322,9	9,5	0,5	0,2
KH10		grand lac thermokarstique	1642,5	498,4	318,9	274,4	492,4	*	1,0	0,3
KH11		étang	268,2	332,2	478,3	48,4	243,8	*	0,6	0,3
KH12		étang	266,8	262,7	433,9	37,7	567,2	13,0	0,7	0,4
KH13		lac thermokarstique	422,7	191,1	371,9	100,5	402,3	*	0,4	0,1
KH14		grand lac thermokarstique	248,9	202,0	252,9	50,4	456,3	*	0,3	0,1
KH15	lac thermokarstique	350,8	150,7	17,4	101,8	815,0	12,9	0,5	0,2	
KH16	étang	281,7	154,8	94,1	70,3	650,9	33,9	0,6	0,3	
KH17	lac thermokarstique	271,6	178,1	119,2	45,4	382,7	*	0,3	0,1	
KH18	lac thermokarstique	351,5	183,4	249,5	78,4	776,5	10,4	0,5	0,2	

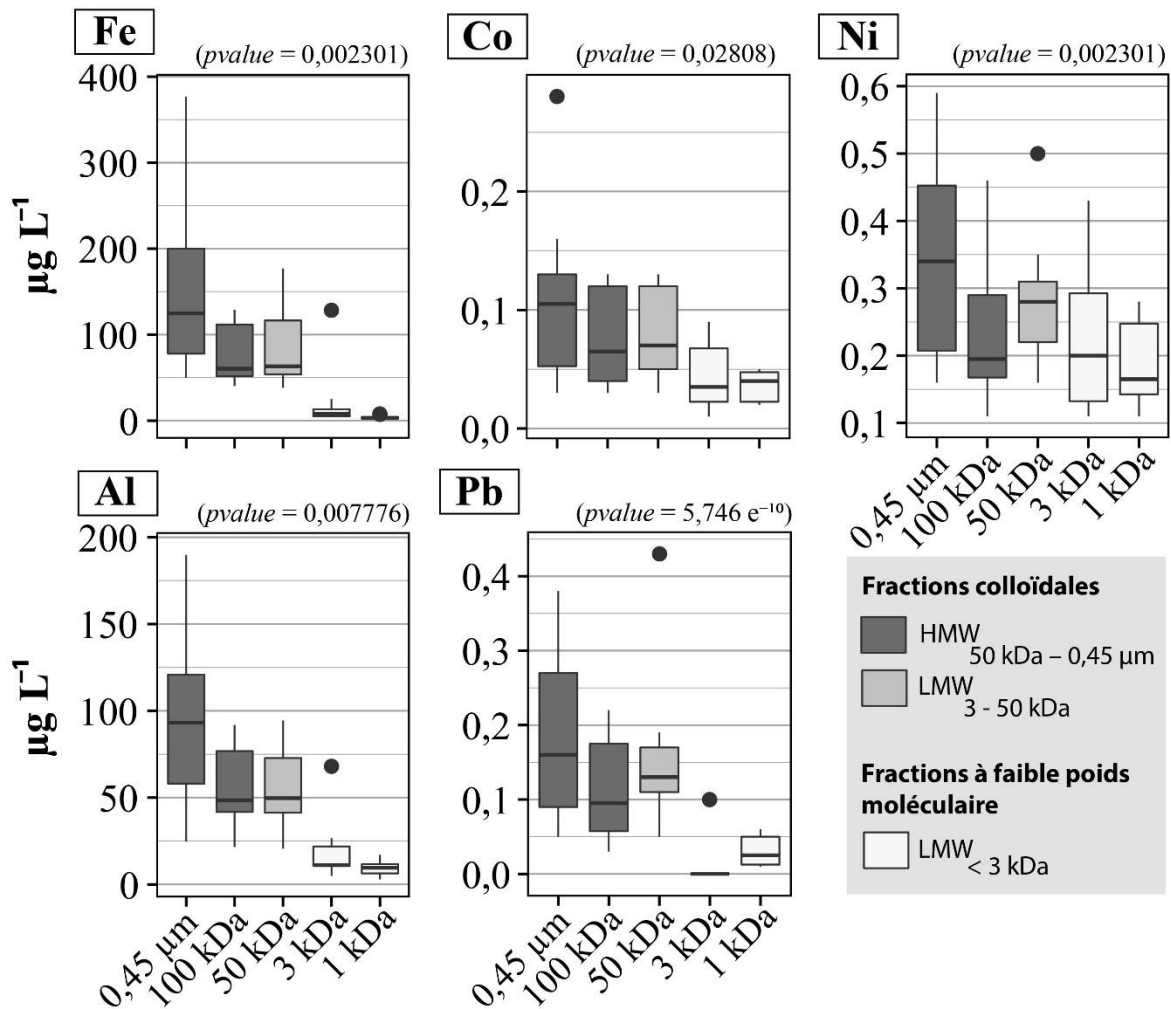
Tableau 2 - 5 (suite) :

ID	B	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Rb	Li	Al	Sr	Y
a	0,5	53,5	5337,0	3,4	7,4	10,7	8,2	3,8	1,1	1778,0	11,0	4,3
c	0,1	25,8	2380,0	0,8	1,3	1,2	4,1	0,3	0,8	418,0	3,7	0,6
d	0,9	4,7	305,5	0,1	0,2	0,5	2,1	4,2	0,6	54,9	14,1	0,1
g	0,1	28,2	778,5	0,7	1,4	0,9	2,8	0,8	0,9	169,3	21,1	0,2
h	0,0	23,2	1423,0	1,1	2,0	1,7	10,2	0,1	1,0	195,8	5,9	0,2
TKH1	88,6	72,8	2222,0	0,2	1,1	0,3	49,2	0,3	1,6	88,6	23,3	0,3
TKH2	31,2	69,0	1213,0	0,2	0,4	0,2	27,2	0,4	1,1	56,0	14,5	0,1
TKH3	10,5	125,6	1359,0	0,2	0,3	0,1	5,5	0,1	1,4	41,8	10,8	0,1
TKH4	92,3	1,4	304,2	0,1	0,3	0,2	106,2	1,2	0,7	150,0	3,9	0,0
TKH5	51,9	1,5	194,2	0,1	0,4	0,3	57,0	0,9	0,7	104,1	3,6	0,1
KH1	5,3	8,5	49,9	0,0	0,2	0,3	2,1	0,1	0,5	40,6	0,4	0,0
KH3	5,4	8,1	84,6	0,1	0,2	0,3	2,7	0,0	0,6	38,1	1,0	0,0
KH4	4,4	5,3	53,8	0,0	0,2	0,1	1,8	0,1	0,6	24,7	0,5	0,0
KH5	6,0	18,5	209,4	0,1	0,4	0,5	5,4	0,1	0,6	132,0	3,8	0,0
KH6	4,8	8,2	79,9	0,1	0,2	0,1	2,2	0,0	0,6	62,0	1,7	0,0
KH7	3,1	15,6	90,3	0,1	0,3	0,3	7,4	0,1	0,5	91,6	3,4	0,0
KH8	6,0	5,1	77,3	0,1	0,2	0,1	1,5	0,2	0,5	56,8	1,8	0,0
KH9	6,4	6,7	268,2	0,1	0,5	0,4	5,1	0,2	0,6	94,7	2,2	0,1
KH10	11,2	28,7	376,8	0,3	0,6	0,3	4,5	0,6	1,7	189,8	4,6	0,1
KH11	8,5	16,9	172,6	0,1	0,4	0,2	6,3	0,1	0,6	96,6	4,0	0,0
KH12	6,9	13,0	159,1	0,2	0,6	0,4	7,9	0,1	0,6	129,0	4,7	0,1
KH13	4,6	13,7	92,3	0,1	0,3	0,3	3,7	0,2	0,6	102,9	4,0	0,0
KH14	15,1	11,3	184,6	0,1	0,2	0,1	2,8	0,0	0,6	67,9	1,9	0,1
KH15	4,6	6,3	286,8	0,1	0,8	0,2	1,5	0,3	0,6	110,2	1,3	0,1
KH16	4,6	5,1	263,5	0,1	0,7	0,3	2,1	0,2	0,6	129,1	1,2	0,1
KH17	4,1	8,6	211,1	0,1	0,3	0,2	4,4	0,0	0,5	44,2	2,1	0,0
KH18	4,2	11,6	451,00	0,1	0,4	0,2	3,8	0,2	0,6	96,4	2,9	0,0



**Figure 2 - 6 :** Concentration en Fe en fonction des concentrations en Al des eaux prélevées et filtrées à 0,45 µm. Les cercles représentent les eaux de Khanymey et les carrés celles d'Abisko. Les couleurs de remplissage (cf., angle supérieur gauche du graphique) des points (cercles ou carrés) indiquent le type de plan d'eau. La ligne noire est la droite de régression linéaire appliquée aux données présentées et les valeurs des paramètres (équation,  $R^2$  et  $pvalue$ ) de cette régression sont données dans le coin en bas à droite du graphique.

La répartition des concentrations en ET corrélée aux concentrations en COD (As, Pb, Fe, Co, Ni, Cu, Al et Y) dans les différents groupes d'ultrafiltrations a été étudiée. Dans un premier temps, un test de type ANOVA révèle l'existence d'une différence significative ( $pvalue < 0,05$ ) dans la répartition des éléments Pb, Fe, Co, Ni, Cu, Al et Y entre les différents groupes d'eaux ultrafiltrées. Finalement, le plomb, le fer, le cobalt, le nickel et l'aluminium semblent être préférentiellement répartis dans les phases colloïdales. Cette répartition préférentielle est avérée par un test de student (test t) comparant les concentrations en ET des groupes d'eaux ultrafiltrées ayant une taille supérieure à 3 kDa et ceux ayant une taille inférieure à 3 kDa (Figure 2 - 7).



**Figure 2 - 7 :** Répartition des concentrations en ETM (Fe, Co, Ni, Al et Si) dans les différentes fractions. Les fractions colloïdales sont représentées par les boxplots de couleurs grises (gris foncé pour les HMW<sub>50 kDa – 0,45 µm</sub> et gris clair pour les LMW<sub>3-50 kDa</sub>) et la fraction LMW<sub>>3 kDa</sub> est représentée par les boxplots de couleur blanche. La *pvalue* indiquée en haut de chaque graphique est obtenue à partir d’un test statistique de type test de student entre les groupes d’eaux ultrafiltrées colloïdales ayant une taille > à 3 kDa et ceux ayant une taille < à 3 kDa.

#### 2.1.2.4. Dégradation de la MOD colloïdale et implications environnementales

Le bactérioplancton hétérotrophe est capable de minéraliser efficacement la MOD d’origine allochtone dans les lacs boréaux riches en MO (Ask et al., 2009; Jansson et al., 2007, 2000; Kritzberg et al., 2004; Tranvik, 1988; Tranvik and Jørgensen, 1995). Ajoutons à cela les constats fait précédemment : le COD des formes colloïdales représente jusque 63 % du COD total (HMW<sub>50 kDa – 0,45 µm</sub> et LMW<sub>3-50 kDa</sub>, respectivement  $19 \pm 3$  % et  $44 \pm 4$  % du COD total) et certains ETM (Pb, Fe, Co, Ni et Al) se concentrent préférentiellement dans ces mêmes formes



colloïdales. Ainsi, la dégradation des complexes organo-minéraux présents dans les eaux boréales peut entraîner : *i*) la minéralisation de grandes quantités de carbone organique et *ii*) la libération d'ETM (Al, Fe, Co et Ni), dont des métaux toxiques pour l'environnement tel que le Pb. Il existe néanmoins un facteur pouvant freiner cette biodégradation efficace des colloïdes de MO : c'est la forte proportion de composés aromatiques dans les fractions colloïdales. En effet, la biodégradation s'effectue préférentiellement et rapidement (environ 2 semaines) sur des composés carbonés labiles ([Moran and Hodson, 1990](#); [Søndergaard and Middelboe, 1995](#)), ce qui a pour effet d'accumuler dans l'environnement les molécules de carbone aromatiques (accumulation relative par rapport aux molécules aliphatiques) plus difficilement biodégradables.



## ***Section 2.2***

# ***Diel cycle of carbon, nutrient and metal in humic lakes of permafrost peatlands***

***Ref.:*** Shirokova, L.S., Payandi-Rolland, D., Lim, A.G., Manasyrov, R.M., Allen, J., Rols, J.-L., Bénézech, P., Karlsson, J., Pokrovsky, O.S., 2020. Diel cycles of carbon, nutrient and metal in humic lakes of permafrost peatlands. *Science of The Total Environment* 737, 139671. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139671>

### **CRediT authorship contribution statement:**

**L.S. Shirokova:** Conceptualization, Investigation, Writing – original draft.

**D. Payandi-Rolland:** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.

**A.G. Lim:** Investigation. **R.M. Manasyrov:** Investigation.

**J. Allen:** Formal analysis. **J.-L. Rols:** Formal analysis.

**P. Bénézech:** Formal analysis. **J. Karlsson:** Formal analysis.

**O.S. Pokrovsky:** Conceptualization, Writing - original draft

## 2.2.1 Aperçu en français de l'article

### 2.2.1.1 Résumé

Malgré l'importance des eaux de surface en zone de pergélisol sur les émissions de carbone (C) ainsi que l'export de C et de métaux dissous, la majorité des observations des systèmes aquatiques en hautes latitudes correspondent à des échantillonnages ponctuels ou saisonniers et ne prennent donc pas en compte les variations diurnes des cycles de température et de productivité primaire/respiration. Afin de fournir une compréhension complète des variations journalières des émissions de CO<sub>2</sub>, des concentrations en C organique et en éléments traces dans les lacs de tourbières gelées, nous avons réalisé un suivi de différents paramètres. Ces paramètres sont : la température de l'eau, le pH, les flux de CO<sub>2</sub>, les concentrations en CH<sub>4</sub> dissous, en carbone organique et inorganique dissous (COD et CID), en nutriments, en acides carboxyliques, en éléments majeurs et traces ainsi que le nombre de bactéries. La mesure de ces paramètres a été effectuée dans deux lacs thermokarstiques acides (pH = 3,6 et 4,0) et humiques (COD = 15 et 35 mg L<sup>-1</sup>) en zone de permafrost discontinu de Sibérie de l'Ouest. Cette étude démontre que, dans le lac riche en COD (lac Chernoe), durant la nuit, les concentrations et productions de CO<sub>2</sub> sont 2 à 3 fois supérieures à celles observées en journée. Les émissions de CO<sub>2</sub> du lac contenant peu de COD (lac Trisino) sont nulles voire négatives durant la journée et deviennent positives pendant la nuit ainsi que tôt dans la matinée. La concentration en CH<sub>4</sub> des eaux varie d'un facteur 5 sans aucun lien avec le cycle journalier. La totalité des paramètres hydro-chimiques mesurés pour la phase dissoute (*i.e.* < 0,45 µm) tels que le COD, le CID, le SUVA<sub>254nm</sub>, les carboxylates (formate, oxalate, pyruvate et glutarate), le Mn, le Fe, l'Al et d'autres éléments traces restent fortement stables, entre ± 10 % de variation en concentration sur les 2 jours d'étude. Les concentrations en Si, P, K, Cu varient de ± 20 % tandis que les concentrations de Zn et Ni varient d'un facteur 2 à 4 sans aucun lien apparent avec le cycle journalier. Globalement, l'impact du cycle journalier sur les concentrations en CH<sub>4</sub>, COD, nutriments et métaux est inférieur à 10 %. Cependant, négliger les périodes nocturnes pourrait sous-estimer les émissions nettes de CO<sub>2</sub> de 30 à 50 % dans les petits étangs riches en matière organique et faire basculer les bilans d'échange de CO<sub>2</sub> entre grands lacs thermokarstiques et atmosphère, d'un constat nul voire négatif à de la production nette de CO<sub>2</sub> vers l'atmosphère. Etant donné la forte dominance de ces grands lacs dans les régions de pergélisol, la sous-estimation globale de ses flux pourrait être très importante. Ainsi, un suivi des concentrations et flux de CO<sub>2</sub> des lacs thermokarstiques durant

les mois de longues nuits (Août à Octobre) est nécessaire afin d'obtenir les émissions nettes des eaux lenticques des tourbières gelées.

### **2.2.1.2 Conclusion**

Pendant 2 jours, en condition anticyclonique, il est observé une stabilité des valeurs de pH et SUVA<sub>254</sub> ainsi que des concentrations en COD, nutriments, acides carboxyliques, des éléments majeurs et traces dans les eaux acides et humiques des lacs thermokarstiques. À l'inverse, les concentrations et émissions de CO<sub>2</sub> sont négativement corrélées avec la température de l'eau et suivent un cycle journalier dont le maximum de production est atteint après le lever du soleil (température minimale de l'eau de surface) et le minimum durant la fin d'après-midi (température maximale de l'eau de surface). Parmi les éléments majeurs qui contrôlent les variations observées de CO<sub>2</sub>, nous excluons les activités photo- et hétéro-synthétiques du plancton dans la colonne d'eau et la photolyse de la matière organique dissoute (MOD). L'équilibre entre la respiration benthique de la matière organique dissoute et particulaire, et la productivité primaire du périphyton, des macrophytes aquatiques et des mousses immergées, pourrait être responsable de l'augmentation des émissions de CO<sub>2</sub> durant la nuit et de sa diminution, voire de sa capture durant la journée. Négliger les flux nocturnes de CO<sub>2</sub>, particulièrement dans les lacs thermokarstiques de grandes tailles, peut considérablement sous-estimer les émissions de carbone calculées à l'échelle de la région. Ceci souligne la nécessité d'étudier les variations nyctémérales des émissions de C des lacs thermokarstiques de grandes tailles (10 à 500 ha) du fait de leur importante contribution à la surface totale des eaux continentales de la région. Les mesures effectuées sur ces lacs devraient se concentrer sur les périodes de fin d'été et d'automne, lorsque la respiration hétérotrophe domine la productivité primaire et que les cycles journaliers sont les plus prononcés.

### 2.2.2 Abstract

Despite the importance of surface waters of permafrost landscapes in carbon (C) emission and dissolved C and metal storage and export, the majority of available observations in high latitude aquatic systems deal with punctual or seasonal sampling without accounting for diurnal variations in temperature and primary productivity-respiration cycles. Towards providing comprehensive understanding of diel variations in CO<sub>2</sub> emission, organic C and element concentrations in lakes of frozen peatlands, we monitored, each 2 hours over 2 days, the water temperature, pH, CO<sub>2</sub> fluxes, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, dissolved organic and inorganic carbon (DOC and DIC, respectively), nutrients, carboxylic acids, bacterial number, and major and trace elements in two acidic (pH = 3.6 and 4.0) and humic (DOC = 15 and 35 mg L<sup>-1</sup>) thermokarst lakes of discontinuous permafrost zone in Western Siberia. We discovered a factor of 2 to 3 higher CO<sub>2</sub> concentrations and fluxes during the night compared to daytime in the high-DOC lake. The emission fluxes in the low-DOC lake increased from zero to negative values during the day to highly positive values during the end of night and early morning. The methane concentration varied within a factor of 5 without any link to the diurnal cycle. The bulk of dissolved (< 0.45 μm) hydrochemical parameters remained highly stable with ± 10% variation in concentration over 2 days of observation (DOC, DIC, SUVA<sub>254 nm</sub>, carboxylates (formate, oxalate, pyruvate and glutarate), Mn, Fe, Al, other trace elements). Concentrations of Si, P, K, Cu varied within ± 20% whereas those of Zn and Ni ranged by a factor of 2 to 4 without any link to diurnal pattern. Overall, the impact of diel cycle on CH<sub>4</sub>, DOC, nutrient and metal concentration was below 10%. However, neglecting night-time period may underestimate net CO<sub>2</sub> emission by ca. 30 to 50% in small organic-rich thaw ponds and switch the CO<sub>2</sub> exchange from uptake/zero to net emission in larger thermokarst lakes. Given the dominance of large lakes in permafrost regions, the global underestimation of the emission flux may be quite high. As such, monitoring CO<sub>2</sub> concentrations and fluxes in thermokarst lakes during months of extended night-time (August to October) is mandatory for assessing the net emissions from lentic waters of frozen peatlands.

### 2.2.3 Introduction

The emission of greenhouse gases (GHG), particularly CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub>, from inland waters at high latitudes is a critical issue of these aquatic system behaviors under on-going climate warming. Due to sizeable amount of GHG and organic carbon (OC) stored in frozen organic-rich soils and produced during soil interaction with surface waters, high-latitude regions, notably peatlands, are at the forefront of environmental research as they can provide crucial information for modeling of terrestrial C cycle modification in response to permafrost thaw, water temperature rise and aquatic biotic community change (Gorham, 1991; Peura et al., 2020; Roehm et al., 2009). A major issue of lake biogeochemistry is the variation of GHG dynamics in response to photosynthesis/respiration cycle of phyto- and bacterio-plankton (Hanson et al., 2006; Pollard, 2013; Sadro et al., 2014; Szyper et al., 1992) and benthic macrophytes and periphyton (Yvon-Durocher et al., 2014). The diel CO<sub>2</sub> concentration and emission patterns linked to variations in water temperatures and sunlight availability are fairly well documented in temperate rivers and ponds (Baehr and DeGrandpre, 2004; DelVecchia et al., 2019; Forget et al., 2009; Liu et al., 2016; Lynch et al., 2010; Spafford and Risk, 2018; Xiao et al., 2019; Yang et al., 2015). However, due to logistical constraints, the majorities of studies in high latitude, permafrost-affected peatland lakes dealt with one punctual sampling, usually during summer period (e.g., Pokrovsky et al., 2013, 2011; Shirokova et al., 2013), with the exception of several seasonally-rather than daily-resolved measurements (Jonsson et al., 2008; Laurion et al., 2010; Manasypov et al., 2015; Marushchak et al., 2013; Podgrajsek et al., 2014; Serikova et al., 2019). Although the latter studies addressed the seasonality of GHG emission, the diurnal variability of concentration and fluxes in these aquatic settings is rarely considered. In fact, there are various factors controlling DOC concentration and gas exchange of the lake with atmosphere and most of these factors are expected to vary diurnally. The 'external' factors are DOC and DIC (CO<sub>2</sub>) delivery to the lake via shallow surface flow, subsurface (supra-permafrost) flow and possibly underground discharge via taliks (unfrozen water paths through permafrost). The 'internal' factors are determined by metabolism of plankton and periphyton, photo-oxidation of DOC, GHG generation or uptake in sediments, and gas exchange velocity ( $k$ ) that could vary depending on the wind speed and day/night temperature variation via convective mixing (i.e., Eugster et al. (2003)). Because the superposition of these external and internal gas sources likely varies across the systems and the time of the day, their overall impact on net C exchange has to be resolved via diurnal

measurements on contrasting but representative lakes of the permafrost zone. Thus, recent *in situ* observations of CO<sub>2</sub> dynamics in tundra and alpine streams indicate net daytime uptake of CO<sub>2</sub> by photosynthesis (Crawford et al., 2017; Peter et al., 2014; Rocher-Ros, 2019) whereas Arctic lakes showed sizeable diurnal variability in CO<sub>2</sub> concentration and fluxes (Lundin et al., 2016).

In addition to GHG gases that are sensitive to diurnal pattern, dissolved organic carbon and trace elements bound to organic complexes are also likely to be affected by variations of light and temperature. However, the majority of trace metal studies in lakes dealt with one sampling during the day (Albéric et al., 2000; Falkner et al., 1997; Hamilto-Taylor and Willis, 1990; Viollier et al., 1997) and although strong diel variations of solutes were reported in temperate rivers (Brick and Moore, 1996; Carling et al., 2011; Gammons et al., 2005; Jones et al., 2004; Neal et al., 2002; Nimick et al., 2011; Parker et al., 2007; Vorobyev et al., 2019), subarctic organic-rich lakes remained very poorly investigated with the exception of humic lakes in boreal non-permafrost zone (Pokrovsky and Shirokova, 2013; Shirokova et al., 2010). At the same time, diurnal patterns of trace metals, involved in redox cycles and linked to photo-reduction and photo-oxidation (Barry et al., 1994; Emmenegger et al., 2001; McMahon, 1969), including colloidal forms of trace elements (Pokrovsky and Shirokova, 2013) are fairly well established in temperate lake waters but totally unknown in permafrost-affected humic lakes.

The majority of dystrophic to mesotrophic aquatic systems in frozen peatlands drastically differ from oligotrophic northern rivers and lakes in the sense that the peatland thermokarst lakes and ponds are *i*) highly humic, and typically contain between 10 and 100 mg L<sup>-1</sup> of DOC and *ii*) quite acidic, with pH ranging between 3.5 and 5.5 (Pokrovsky et al., 2014). As a result, the GHG and DOC regime in humic lake may be strongly controlled by a balance between the productivity of plankton, periphyton and macrophytes, and the heterotrophic bacteria mineralization of dissolved and particulate OC in the water column and sediments. Indeed, the heterotrophic bacterioplankton is capable to mineralize dissolved organic matter (DOM) of both allochthonous and autochthonous origin (Kritzberg et al., 2004; Tranvik, 1989, 1988) and thus can potentially liberate or consume associated trace metals. At the same time, limited photic layer and generally small abundance of phytoplankton in thermokarst peatland lakes (Pavlova et al., 2016) might preclude the cycle of CO<sub>2</sub> consumption during the day and



its production during the night, unlike it is established in oligotrophic lakes of the subarctic (Ask et al., 2012). Further, considering that photo-oxidation of DOM can be the dominant pathway of C processing in arctic waters (Cory et al., 2014), this may increase CO<sub>2</sub> concentration from night to day (Bertilsson and Tranvik, 2000) thus counteracting the GPP effect, especially in shallow humic waters.

Therefore, the working hypotheses of this study is that the variability in external factors like temperature and light will exert primary control on DOC and related trace elements, and this will produce a diel cycle in C and elements concentrations and GHG emissions in thermokarst lakes. Further, we anticipate that the higher the DOC in a peatland lake, the smaller will be the response of water column hydrochemistry to diel variations in light and temperature. This response may be essentially controlled by external vs internal sources and thus likely to vary depending on lake size. In order to test these hypotheses, we studied two thaw ponds with different size and DOM content and we quantified (1) the variation of dissolved C and metal concentration between day and night and (2) the degree of diel variation in CO<sub>2</sub> flux, in order to reveal the control of hydrochemical parameters by external factors such as temperature and light. For this, we monitored CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, organic carbon, major and trace element concentrations and CO<sub>2</sub> fluxes in thermokarst lakes during 2 summer days of anticyclone weather. Obtained results allowed to improve monitoring practices and demonstrated the need of revising the existing estimations of CO<sub>2</sub> emission from high latitude inland waters, which are mainly based on daytime period.

#### **2.2.4 Material and Methods**

We studied typical thermokarst lake (Lake Trisino, N 63°47'09.35", E 75°38'54.57",  $S_{\text{area}} = 16920 \text{ m}^2$ ;  $S_{\text{watershed}} = 0.108 \text{ km}^2$ , average depth 0.5 m) and thaw pond (Chernoe, N 63°46'55.72", E 75°39'11.73",  $S_{\text{area}} = 1830 \text{ m}^2$ ;  $S_{\text{watershed}} \leq 500 \text{ m}^2$ , average depth 0.3 m) located at the INTERACT Research Station (Khanymey), discontinuous permafrost zone of the Western Siberian Lowland (WSL) as shown in **Figure 2 - S1** of Supplement. The permafrost here is abundant within flat-mound peat bogs on the watershed divides. The depth of the active (seasonally unfrozen) layer ranges from  $145 \pm 20 \text{ cm}$  within the depressions to  $41 \pm 5 \text{ cm}$  at the mounds (Raudina et al., 2018). Within the area of the Khanymey Research station, there are numerous thermokarst lakes and thaw ponds formed due to thawing of histosols (0.1 to 1.4 m peat thickness) over mineral (essentially Pleistocene sands) substrates (Shirokova et al.,

2013). The feeding of small thaw ponds and large thermokarst lakes occurs either by supra-permafrost flow from adjacent mounds or by surface runoff from the elevated parts of the lake watershed.

The observations were performed during 48 h on July 26-28<sup>th</sup> 2018, at stable anticyclone conditions without any precipitation event. The July was chosen as the month of maximal surface water temperature and ecosystem productivity. Although the nighttime is much longer in August and September, possible rain events can affect the biotic cycle, thus preventing us from stable and continuous daily measurements. Samples were collected in the middle of the lake, at the depth of 20 cm and 10 cm (Trisino and Chernoe, respectively), from a PVC boat, which was gently moved over the lake surface using a rope held by a person standing on the shore to avoid disturbance of sediments. Every 2 hours, the dissolved oxygen (CelloX 325; accuracy of  $\pm 5\%$ ), specific conductivity (TetraCon 325;  $\pm 1.5\%$ ), pH (SenTix 41;  $\pm 0.02$  pH) and water temperature ( $\pm 0.2$  °C) were measured *in-situ* at 20 cm depth using a WTW 3320 Multimeter. Air temperature and atmospheric pressure were measured using an ADC Summit handheld weather station (Silva). The partial pressure of CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) in water was measured *in-situ* using a hand-held infrared gas analyser (IRGA, GMT222 CARBOCAP 3000 ppm probe, Vaisala;  $\pm 1.5\%$ ) enclosed within a waterproof and gas-permeable membrane and connected to a logger (MI70, Vaisala;  $\pm 0.2\%$ , see details in [Serikova et al. \(2019\)](#)).

Water samples for DOC, DIC, and dissolved CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> were collected and analyzed following methods described elsewhere ([Manasyrov et al., 2015](#); [Polishchuk et al., 2018](#); [Serikova et al., 2018](#)). In brief, for DOC analyses, collected waters were filtered on-site in pre-washed sterile 30-mL polypropylene Nalgene® bottles through single-use Minisart filter units (0.45 µm pore size, Sartorius, acetate cellulose filter). The first 20 mL of the filtrate was always discarded. The DOC and DIC were analyzed using a Carbon Total Analyzer (Shimadzu TOC VSCN) with an uncertainty better than 3% (see [Prokushkin et al. \(2011\)](#) for methodology). For calculating SUVA<sub>254</sub>, we measured ultraviolet absorbance at 254 nm (UV<sub>254</sub>) using a 10-mm quartz cuvette on a Bruker CARY-50 UV-VIS spectrophotometer following ([Abbt-Braun and Frimmel, 1999](#)). Filtered solutions for cations and trace element analyses were acidified (pH = 2) with ultrapure double-distilled HNO<sub>3</sub> and stored in HDPE bottles previously washed with 0.1 M HCl and rinsed with ultrapure MilliQ deionized water. The preparation of sampling bottles was performed in a clean bench room class A 10 000. Major cations (Ca, Mg, Na, K), Si

and trace elements (TE) were determined without pre-concentration by ICP-MS Agilent 7500ce, routinely used in our laboratory for analysis of organic-rich lakes from frozen peatlands (Pokrovsky et al., 2016). We obtained a good agreement between replicated measurements of SLRS-5 (River water reference material for trace metals) and the certified values (relative difference < 10% SD on repeated measurements), for all major and trace elements, except B and P (30%). Chloride, sulfide, fluoride and carboxylic organic ligands (lactate, acetate, propionate, formate, butyrate, pyruvate, galacturonate, glutarate, malate, tartrate, oxalate, phthalate, quinate, and citrate) were measured using a high-performance ion chromatography (Dionex ICS-5000+, analytical column: AS11-HC 4  $\mu\text{m}$ ), with an uncertainty of 5% and detection limits of 2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Phosphate was also measured by an IC with an uncertainty of 2% and a detection limit of 1  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Total microbial cell concentration was measured after sample fixation in glutaraldehyde, by a flow cytometry (Guava® EasyCyte™ systems, Merck). Cells were stained using 1  $\mu\text{L}$  of a 10 times diluted SYBR GREEN solution (10000x, Merck), added to 250  $\mu\text{L}$  of each sample before analysis. Particles were identified as cells based on green fluorescence and forward scatter (Marie et al., 1999).

For GHG analyses, unfiltered water was sampled in 25-mL Serum bottles that were closed without air bubbles using vinyl stoppers and aluminum caps and immediately poisoned by adding 0.2 mL of saturated  $\text{HgCl}_2$  using a two-way needle system. The  $\text{CH}_4$  concentrations were measured using a Bruker GC-456 gas chromatograph (GC) equipped with flame ionization detector. The  $\text{CO}_2$  fluxes ( $\text{FCO}_2$ ) were measured in both lakes using small (30 cm diameter) floating chambers equipped with non-dispersive infrared  $\text{CO}_2$  logger (ELG, SenseAir, Bastviken et al., 2015) and calculated following methods described elsewhere (Serikova et al., 2019; Vachon et al., 2010). The  $\text{CO}_2$  loggers were calibrated in the lab against pure  $\text{N}_2$  -  $\text{CO}_2$  mixtures before each sampling campaign. We placed chambers along a transect from the shore to the center of the lakes, with 6 chambers for the Lake Trisino and 4 chambers for the smaller Chernoe. The  $\text{CO}_2$  accumulation rate inside each chamber was recorded continuously at 5 minutes interval. The chambers were ventilated each 2 hours and the  $\text{CO}_2$  accumulation rate inside each chamber was calculated by linear regression for 50 to 100 min accumulation time. Examples of  $\text{CO}_2$  concentration vs. time in both lakes are shown in **Figure 2 - S2** Note that, although linear regression can underestimate  $\text{CO}_2$  flux in the static floating chamber method (Xiao et al., 2016), the use of exponential model of Xiao et al. (2016) instead of linear

regression yields minor corrections to the final flux values (within  $\pm 5$ -10%) which is below the uncertainty of replicates.

The normality of DOC, major and trace elements, GHG concentration and fluxes was assessed via the Shapiro-Wilk test. Because the data were not normally distributed, we used non-parametric statistics. A non-parametric Mann-Whitney U-test was taken for treating the data due to the short series of observation, non-normal distribution of number of parameters and some amount of outliers. Regressions were used to examine the relationships between  $p\text{CO}_2$ ,  $\text{FCO}_2$  and water temperature. We used the median, 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> quartiles to trace the dependence of all hydrochemical components on the period of observation (day vs. night). Differences in concentrations and fluxes between day and night time and between two lakes were tested using Mann-Whitney U test for paired data sets with significance level at 0.05, given the limited number of data (short series of observation and some amount of outliers).

## **2.2.5 Results**

### **2.2.5.1 Lack of diel variations in major lake water parameters, nutrients, trace elements and bacteria**

Concentrations of GHG and dissolved components (DOC, DIC, major cations and anions, and 30 trace elements), pH and specific conductivity during the two days observation are provided in the Mendeley Data Repository ([Pokrovsky et al., 2019](#)). The two chosen lakes are representative for the region in terms of DOC, GHG and metal concentration as illustrated in plots of lake water hydrochemical parameters as a function of lake surface area (**Figure 2 - S3** and **Figure 2 - S4** of the Supplement). The DOC-rich thaw pond Chernoe had about 2 times higher DOC concentration (significant at  $p < 0.001$ ) than thermokarst lake Trisino and exhibited respectively, 2 to 3 times higher concentrations of divalent metal cations (Mg, Ca, Sr, Ba, Mn, Co, Ni, Cu, Pb, Cd), trivalent and tetravalent TE (Al, Ti, Fe, Zr, REEs, Th), Cr, As, Cs, Nb, and U, which are usually bound to organic colloids in thermokarst waters ([Pokrovsky et al., 2016](#)).

The summer-time period of lake sampling corresponds to most stable chemical composition of lake waters ([Manasypov et al. \(2015\)](#) and **Figure 2 - S5**). This period is often used for C and element pool inventory ([Polishchuk et al., 2018](#)) because the lake volume and shoreline are most stable. Moreover, our two day measurements are fully consistent with

previous observations under normal summer conditions, as illustrated in **Tableau 2 - S 1** which lists the mean ( $\pm$  SD) values of pH, DOC, DIC and trace element in both lakes during summer 2013, 2015, 2016 and this study. The Mann-Whitney U-test did not show significant difference between different years of both lakes.

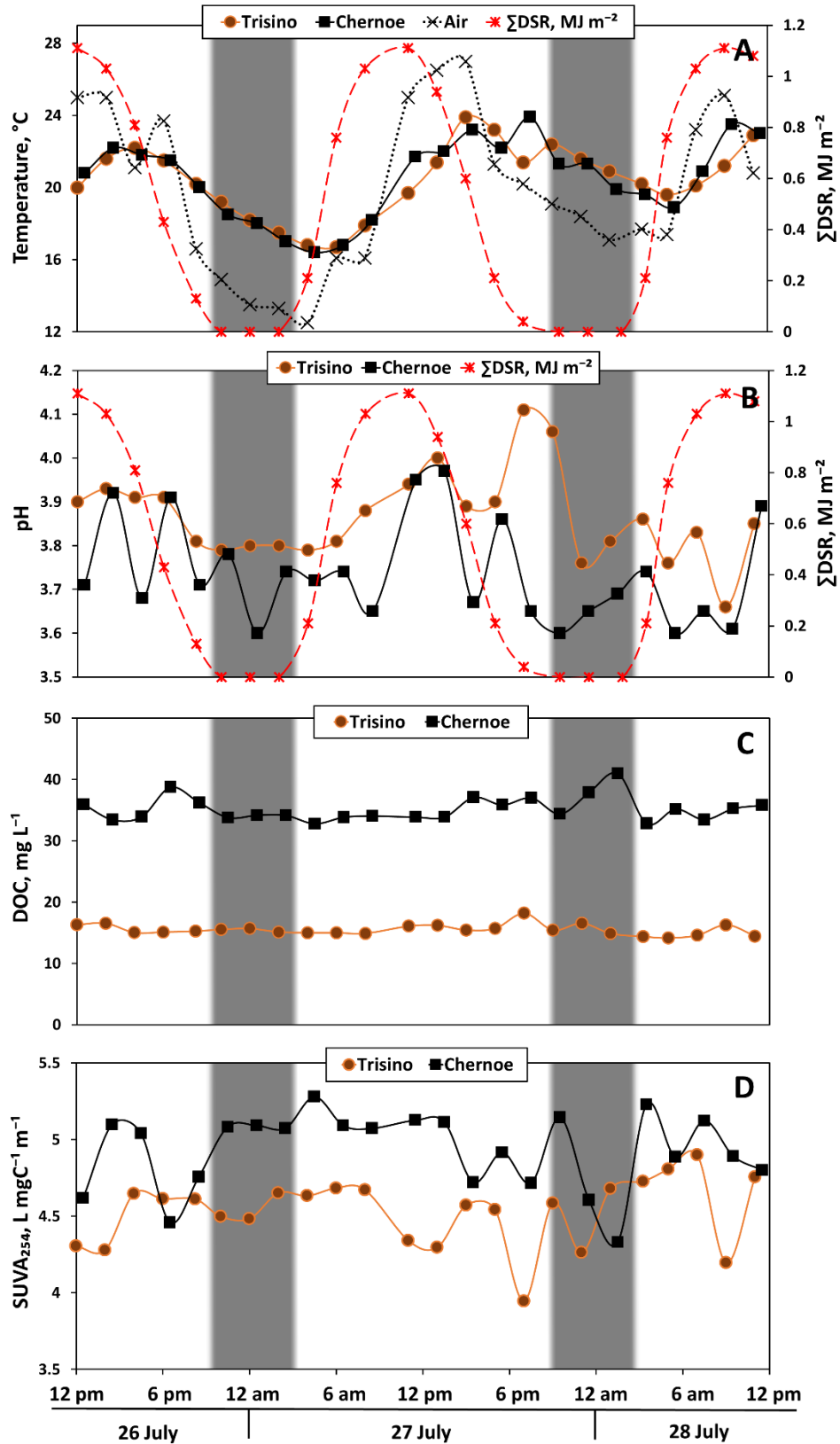
For convenience, we listed the 48-h median ( $\pm$ IQR) values of all measured parameters at the end of the day and end of the night, corresponding to minimum and maximum of CO<sub>2</sub> concentration and emission (see section 3.2. below) in **Tableau 2 - 6**. The corresponding median values integrated over two days and nights are given in **Tableau 2 - S2**. The water temperature of the two lakes followed a similar diurnal cycle with a minimum temperature attained approximately 2 h after sunrise (**Figure 2 - 8A**). The difference between day and night was significant, as confirmed by Mann-Whitney U-test ( $p = 0.006$  and  $0.008$  for Trisino and Chernoe, respectively). The pH exhibited rather weak ( $\pm 0.2$  to  $0.3$  units) fluctuations with generally higher values during the day compared to night time (**Figure 2 - 8B**). The water column remained O<sub>2</sub>-saturated (90%) for both lakes and the O<sub>2</sub> concentration increased by ca. 20-30% from the middle of the night until noon, generally following the pattern of pH (not shown). The DOC remained fairly constant with non-systematic variations around the mean value ( $\pm$  SD) of  $35.2 \pm 2.0$  and  $15.5 \pm 0.9$  mg L<sup>-1</sup> in Chernoe and Trisino, respectively (**Figure 2 - 8C**). The SUVA<sub>254</sub> was also constant and fluctuated non-systematically between 4 and 5 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> for both lakes (**Figure 2 - 8D**).

Phosphate and silica concentrations did not exhibit discernable diel variation in both lakes; PO<sub>4</sub> remained essentially constant at 17 to 20  $\mu$ g P-PO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> (**Figure 2 - S6 A**), whereas Si fluctuated between 150 and 250  $\mu$ g L<sup>-1</sup> without distinct trend (**Figure 2 - S6 B**). The concentration of carboxylates remained constant (formate, oxalate, pyruvate) or fluctuated without any diel pattern (acetate and lactate) as illustrated in **Figure 2 - S7**. The concentration of formate and oxalate was ca. 30 to 60% higher in organic-rich Chernoe compared to organic-poor Trisino, and glutarate was detected only in Chernoe, also without diurnal pattern. The total cell number and biomass of bacteria were similar between the two lakes and varied within 10-15% throughout the observations without any systematic difference ( $p > 0.05$  of Mann-Whitney U-test) between the day and the night period ( $512,000 \pm 41,000$  cell mL<sup>-1</sup> in Trisino and  $531,000 \pm 80,000$  cell mL<sup>-1</sup> in Chernoe).

**Tableau 2 - 6 :** Median ( $\pm$  IQR) concentration in the Trisino Lake and the Chernoe Pond during the period of low and high emission CO<sub>2</sub>. The minimum is calculated at the end of the day (late afternoon) and the maximum corresponds to the end of night/early morning.

Variable	Trisino Lake		Chernoe Pond	
	day min	night max	day min	night max
T <sub>water</sub> , °C	22.2 $\pm$ 1.6	18.9 $\pm$ 3.4	22.1 $\pm$ 1	18.3 $\pm$ 3.05
T <sub>air</sub> , °C	21.3 $\pm$ 3.9	15.2 $\pm$ 4.5	21.3 $\pm$ 3.9	15 $\pm$ 6.2
pH	3.91 $\pm$ 0.03	3.81 $\pm$ 0.04	3.68 $\pm$ 0.19	3.73 $\pm$ 0.04
SC*, $\mu$ S cm <sup>-1</sup>	19 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	28 $\pm$ 1	29 $\pm$ 0.5
flux CO <sub>2</sub> , g C m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup>	-0.03 $\pm$ 0.02	0.2 $\pm$ 0.14	0.08 $\pm$ 0.06	0.22 $\pm$ 0.08
CH <sub>4</sub> , $\mu$ mol L <sup>-1</sup>	0.23 $\pm$ 0.06	0.42 $\pm$ 0.36	3.74 $\pm$ 2.54	4.84 $\pm$ 1.51
CO <sub>2</sub> , ppmv	360 $\pm$ 90	740 $\pm$ 148	580 $\pm$ 390	1210 $\pm$ 155
DIC, mg L <sup>-1</sup>	0.6 $\pm$ 0.05	0.6 $\pm$ 0.03	0.6 $\pm$ 0.11	0.7 $\pm$ 0.21
DOC, mg L <sup>-1</sup>	15.7 $\pm$ 1.12	14.9 $\pm$ 0.44	35.9 $\pm$ 3.09	33.5 $\pm$ 4.77
SUVA <sub>254</sub>	4.54 $\pm$ 0.29	4.67 $\pm$ 0.06	4.92 $\pm$ 0.32	5.15 $\pm$ 0.55
Li, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.65 $\pm$ 0.04	0.64 $\pm$ 0.01	0.61 $\pm$ 0.01	0.58 $\pm$ 0.01
B, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	5.62 $\pm$ 3.66	3.51 $\pm$ 1.06	8.66 $\pm$ 2.69	5.37 $\pm$ 0.54
Na, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	369 $\pm$ 13.4	367 $\pm$ 8.1	373 $\pm$ 37.1	339 $\pm$ 24.8
Mg, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	243 $\pm$ 1.9	243 $\pm$ 1.3	437 $\pm$ 2.9	431 $\pm$ 18.3
Al, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	64.1 $\pm$ 2.23	62.9 $\pm$ 3.94	137 $\pm$ 3	136 $\pm$ 7.9
Si, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	138 $\pm$ 19	143 $\pm$ 31.6	227 $\pm$ 37.9	191 $\pm$ 57.2
K, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	98.7 $\pm$ 26.3	85.4 $\pm$ 21.9	93.5 $\pm$ 11.6	79.8 $\pm$ 32.9
Ca, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	44.9 $\pm$ 4.24	42.5 $\pm$ 21.2	538 $\pm$ 18.7	533 $\pm$ 77.6
Mn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	8.9 $\pm$ 0.06	8.99 $\pm$ 0.24	20.3 $\pm$ 0.61	20.2 $\pm$ 0.61
Fe, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	90 $\pm$ 2.1	88.8 $\pm$ 2.71	274 $\pm$ 27.6	272 $\pm$ 18
Co, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.08 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.004
Ni, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.22 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.1	0.42 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.3
Cu, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.16 $\pm$ 0.06	0.17 $\pm$ 0.04	0.47 $\pm$ 0.01	0.45 $\pm$ 0.05
Zn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	6.1 $\pm$ 8.57	3.84 $\pm$ 1.73	12.2 $\pm$ 8.12	6.41 $\pm$ 0.85
As, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.32 $\pm$ 0.002	0.33 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.02
Rb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.02 $\pm$ 0.03	0.04 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.07
Sr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	1.92 $\pm$ 0.06	1.93 $\pm$ 0.12	4.38 $\pm$ 0.05	4.37 $\pm$ 0.38
Y, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.03 $\pm$ 0.002	0.03 $\pm$ 0.001	0.04 $\pm$ 0.002	0.03 $\pm$ 0.002
Pb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.11 $\pm$ 0.04	0.15 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.01
Ti, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.42 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.02	1.4 $\pm$ 0.06	1.35 $\pm$ 0.07
V, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.92 $\pm$ 0.01	0.87 $\pm$ 0.02	1.02 $\pm$ 0.05	0.98 $\pm$ 0.02
Cr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.39 $\pm$ 0.09	0.33 $\pm$ 0.05	0.71 $\pm$ 0.05	0.6 $\pm$ 0.04
Zr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.06 $\pm$ 0.002	0.05 $\pm$ 0.002	0.11 $\pm$ 0.003	0.1 $\pm$ 0.01
Mo, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.004 $\pm$ 0.004	0.005 $\pm$ 0.003	0.01 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.004
Cd, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.001	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.004
Sb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.04 $\pm$ 0.002	0.04 $\pm$ 0.002	0.05 $\pm$ 0.003	0.04 $\pm$ 0.002
Cs, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.001 $\pm$ 0.0001	0.001 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.002
Ba, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	2.14 $\pm$ 0.22	2.13 $\pm$ 0.28	4.01 $\pm$ 0.21	4.06 $\pm$ 0.5
La, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.003	0.02 $\pm$ 0.001
Ce, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.02 $\pm$ 0.002	0.02 $\pm$ 0.002	0.04 $\pm$ 0.004	0.05 $\pm$ 0.002
Th, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.0004	0.01 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.0001	0.02 $\pm$ 0.001
U, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.002 $\pm$ 0.001	0.002 $\pm$ 0.0005	0.01 $\pm$ 0.0003	0.01 $\pm$ 0.0004

\*SC – Specific conductivity.



**Figure 2 - 8:** Air and water temperature and direct solar radiation (DSR) (A), pH (B), DOC concentration (C), and SUVA (D) variations in surface water measured in the two lakes of Western Siberia (Trisino and Chernoe). The shadowed area represents night-time observations (same for Figs. 2 and 3).

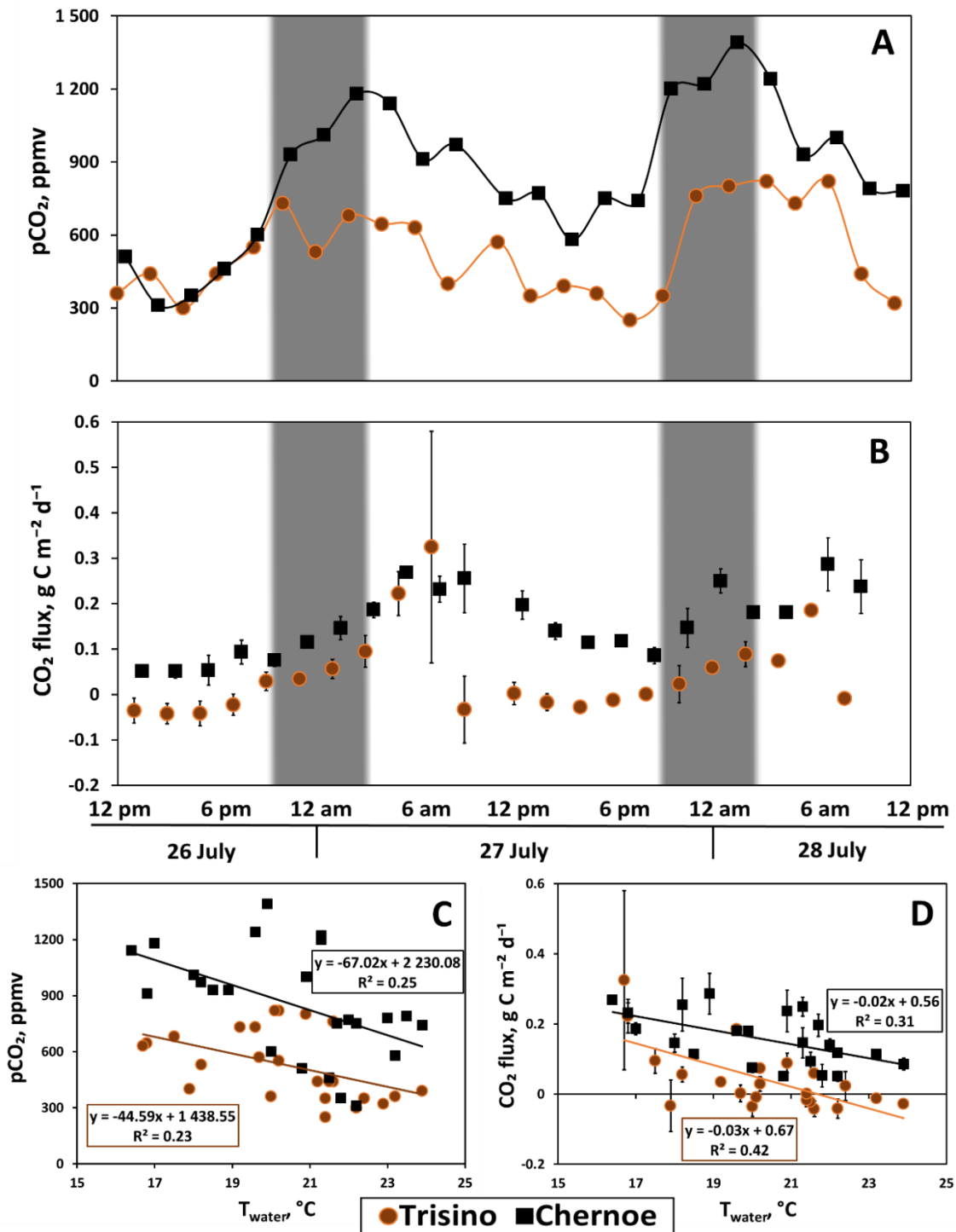
The DIC in both lakes was very low, 0.6 to 0.7 mg L<sup>-1</sup> and did not respond to day/night cycle (**Figure 2 - S8 A**). The major cations (K, Na, Ca, Mg) and anions (Cl, SO<sub>4</sub>, F) concentrations and specific conductivity (S.C.) also remained constant within ±10% as illustrated in **Figure 2 - S8 B** for specific conductivity. Most trace elements did not exhibit any sizeable variations over diurnal cycle as their concentrations remained stable within ±10% (Li, B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, As, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Cd, Cs, Ba, REEs, Pb, Th, U) as illustrated in **Figure 2 - S8** and **Figure 2 - S9**. The exceptions were Cu, Zn and Ni whose concentrations varied by a factor of 1.5 to 3.0, respectively, however, without any discernable diel cycle (**Figure 2 - S9 D and E**). These trace elements did not exhibit significant difference between their day-time and night-time concentrations over 48 h of monitoring as confirmed by Mann-Whitney U-test ( $p > 0.05$  for both lakes).

#### **2.2.5.2 Dissolved CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> and emission flux of CO<sub>2</sub>**

The pCO<sub>2</sub> ranged from 300 to 800 ppmv in Trisino and from 400 to 1400 ppmv in Chernoe. The pCO<sub>2</sub> demonstrated clear diurnal pattern with a factor of 2 to 4 higher concentrations achieved at the end of the night and early morning (**Figure 2 - 9A**) compared to the middle of the day. The difference in CO<sub>2</sub> concentration between the end of night / early morning peak and the end of day minimum averaged over 48 h of observation was significant for both lakes ( $Z = -2.48$ ,  $p = 0.013$  for Trisino;  $Z = -2.80$ ,  $p = 0.005$  for Chernoe). The diurnal pattern of pCO<sub>2</sub> significantly correlated with water temperature ( $T_{\text{water}}$ ):  $R_{\text{Spearman}} = -0.52$ ,  $p < 0.01$  and  $R_{\text{Spearman}} = -0.57$ ,  $p < 0.005$  for Trisino and Chernoe, respectively (**Figure 2 - 9C**). The FCO<sub>2</sub> was close to zero or negative during the day time in Trisino ( $-0.02 \pm 0.02$  g C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, mean ± SD) but positive in Chernoe ( $0.12 \pm 0.07$  g C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, mean ± SD). During the night, the FCO<sub>2</sub> strongly increased and became positive in Trisino ( $0.12 \pm 0.1$  g C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, mean ± SD), whereas its increase in Chernoe was a factor of 2 to 5 between the day minimum and the night maximum (**Figure 2 - 9B**). Similar to pCO<sub>2</sub>, the FCO<sub>2</sub> followed the diurnal pattern which was shifted with respect to solar radiation intensity and significantly ( $R_{\text{Spearman}} = -0.56$ ,  $p < 0.01$  and  $R_{\text{Spearman}} = -0.57$ ,  $p < 0.01$  for Trisino and Chernoe, respectively) negatively correlated with water temperature (**Figure 2 - 9D**). The difference in FCO<sub>2</sub> between early morning maximum and late afternoon minimum was significant ( $Z = -2.65$ ,  $p = 0.008$  for Trisino;  $Z = -2.19$ ,  $p = 0.028$  for Chernoe). Furthermore, to check the difference in the degree of pCO<sub>2</sub> and FCO<sub>2</sub> response to diel cycles of temperature and light between two lakes, we used a Mann-Whitney U-test. The lakes were

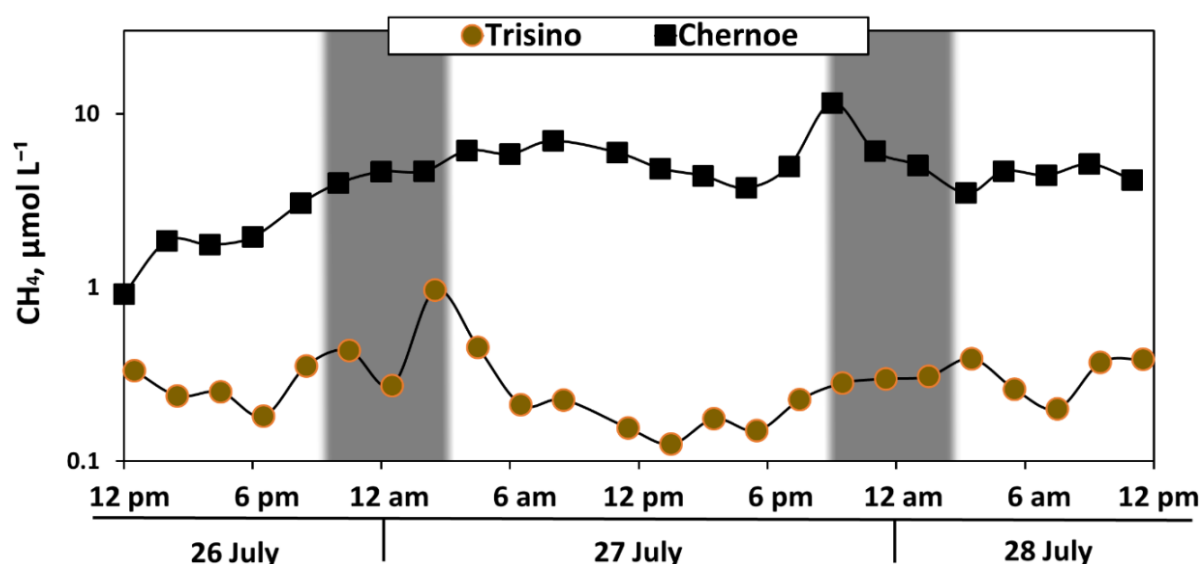


significantly different ( $Z = -2.00$ ,  $p = 0.045$  for the end of the day minimum;  $Z = -2.80$ ,  $p = 0.005$  for the early morning maximum).



**Figure 2 - 9 :** Diurnal pattern of pCO<sub>2</sub> (A) and CO<sub>2</sub> flux (FCO<sub>2</sub>) (B) measured in the two lakes of Western Siberia. The negative correlations between pCO<sub>2</sub> and water temperature (C) and FCO<sub>2</sub> and water temperature (D) are significant at  $p < 0.01$ . The error bars represent the s.d. of six (Trisino) and four (Chernoe) chamber measurements across the lakes.

The CH<sub>4</sub> concentration ranged between 0.15 and 0.5 μmol L<sup>-1</sup> in DOC-poor Trisino and between 2 and 7 μmol L<sup>-1</sup> in organic-rich Chernoe (**Figure 2 - 10**). Possible impact of bubble emissions was taken into account via assessing lateral heterogeneity of CH<sub>4</sub> concentrations across the lakes, and reflected in the uncertainty attached to the data at each time of the day. These uncertainties typically ranged from 10 to 20%. There was no systematic trend of CH<sub>4</sub> with time and diurnal pattern in large Lake Trisino; however, the CH<sub>4</sub> concentrations in small and shallow Chernoe pond increased up to ca. 5-fold after the beginning of sampling without following the diurnal pattern. We therefore cannot exclude sediment disturbance and bubble release due to boat movement, which interfered with methane measurements in the Chernoe Lake given its low depth.



**Figure 2 - 10:** Diurnal pattern concentration of dissolved CH<sub>4</sub> measured in the two lakes of Western Siberia. The uncertainties of CH<sub>4</sub> concentration are within the symbols size. They stem from 2 to 3 individual measurements in various part of the lake at each time of the day.

## 2.2.6 Discussion

### 2.2.6.1 High stability of pH, nutrients, organic acids and dissolved (< 0.45 μm) components of thermokarst lakes

Diurnal variations of major hydrochemical and biological parameters (Eiler et al., 2006) and trace metals, involved in redox cycles (Barry et al., 1994; Emmenegger et al., 2001; McMahon, 1969; Pokrovsky and Shirokova, 2013) in lake waters are fairly well known. The present study adds a novel dimension to the existing knowledge *via* reporting the chemical composition of previously unknown humic and acidic thermokarst lakes, which are widely distributed in the permafrost zone of Northern Eurasia (Polishchuk et al., 2018). Over 2 days

and nights monitoring in the Trisino Lake, the pH decreased by 0.1 to 0.2 unit during the night compared to day time period, presumably reflecting the primary production – mineralization processes (Wright and Mills, 1967; Zirino et al., 1986), as it is known in non-permafrost humic lakes of circum-neutral pH (Shirokova et al., 2010). The low pH of studied lakes (3.86 and 3.71 of Trisino and Chernoe, respectively) stems from a combination of high DOC, acidic nature of surrounding peat and ground and submerged vegetation (mostly mosses). Note that the diel pH variations were much lower (ca.,  $0.1 \pm 0.1$  unit) in organic-rich Chernoe which had two times higher DOC concentration. Overall, the obtained results dismiss the hypothesis of temperature and light control on DOC and trace element concentration in lakes and ponds of permafrost peatlands. Moreover, the degree of response in solute concentrations (except pH and CO<sub>2</sub>) to diel variation in external parameters was not related to the DOC level in humic lakes.

The constant concentration of DOC and lack of discernable diel pattern in SUVA in both lakes suggest that the pool of dissolved organic carbon was not affected, at the diel scale, by the five main processes controlling DOM level in thermokarst lake waters. These are: *i*) soil water input *via* supra-permafrost flow (Raudina et al., 2018); *ii*) benthic respiration of DOM (Demars, 2019), *iii*) photo-degradation (Cory et al., 2014), *iv*) heterotrophic consumption of DOM in the water column (Kritzberg et al., 2006; Peura et al., 2020; Shirokova et al., 2009) and *v*) phytoplankton and macrophytes exometabolite production (Demarty and Prairie, 2009). First of all, it is possible that the main processes controlling DOC input and removal in the water column, such as phytoplankton metabolite production and photo-oxidation, compensate each other at the diurnal scale. Similarly, the DOC delivery *via* supra-permafrost flow may accelerate during the day due to enhanced soil heating and ice thaw, but this freshly-delivered allochthonous DOC can be quickly, on the scale of first hours, processed by photolysis (Shirokova et al., 2019a). Note that low impact of the phytoplankton and heterotrophs on DOC and SUVA is consistent with lack of diurnal variation in limiting nutrients (Si, PO<sub>4</sub>), simple organic acids that can be used for heterotrophic metabolism (acetate, lactate, formate, pyruvate, oxalate), and the total bacterial number. A lack of Si concentration change between day and night is also consistent with low abundance of diatoms in thermokarst lakes of Western Siberia, given that the phytoplankton of acidic and humic waters is dominated by cyanobacteria and green algae (Pavlova et al., 2016). Finally, in agreement with results on some temperate rivers (Spencer et al., 2007b) and boreal lakes (Pokrovsky and Shirokova,

2013; Shirokova et al., 2010), it is possible that the changes in bulk DOC concentration simply could not be quantified because the biogeochemically-processed fraction of DOC was small and not detectable at overall high DOC level in humic waters. Therefore, the present study corroborates recent results on humic (24 mg DOC L<sup>-1</sup>) and circumneutral (pH = 7.5-9.7) subarctic lake which demonstrated limited variability in DOC and SUVA on a diel scale compared to a seasonal scale (Johnston et al., 2019). The latter was essentially linked to the change in specific organic compounds (decrease of aromatic and polyphenolic classes) and increase in aliphatic compounds, following pulses of allochthonous and autochthonous DOM. Presumably, these pulses are not detectable over hours to daily scale observation, especially in high-DOC aquatic environments. Similar deduction can be applied for the lack of DIC pattern: at the acidic pH of Trisino and Chernoe water, the DIC represents quite small fraction of CO<sub>2</sub> and thus the DIC variations linked to photosynthesis cycle could not be resolved due to high pCO<sub>2</sub> variations.

For other dissolved (< 0.45 μm) components of the water column, we observed quite high stability of concentrations in both lakes, which signifies that the role of diel processes in the water column, the water-sediment exchange and short-term input of supra-permafrost waters were negligible during 2 days of observation. This result is also important from methodological point of view as it suggests that for most dissolved major and trace elements of thermokarst lakes in discontinuous permafrost zone, a single one-time sampling at any period of the day or night is sufficiently representative for a given lake during specific season of the year.

Another important result of our observations is that there was a factor of 2 to 3 higher concentration of DOC and ~ 30 elements in DOC-rich Chernoe thaw pond compared to the DOC-poor Trisino Lake. It is known that the majority of cations are strongly bound to organic and organo-ferric colloids in thermokarst lakes and ponds of discontinuous permafrost zone of WSL (typically from 80 to 99%, Pokrovsky et al. (2016)). Given that both DOC and Fe concentrations are 2 to 3 times higher in the Chernoe Lake compared to the Trisino Lake, the concentration of organo-ferric colloids that bind many trace elements is also higher in the Chernoe Lake. The exceptions are Li, B, Na, K, Si, V, Mo and Sb that are not bound to organic colloids and thus exhibit similar (within ±20%) concentrations in both lakes. Note that while total dissolved phosphorus (P<sub>tot</sub>) was 5 to 10 times lower in the low-DOC Trisino compared to

the high-DOC Chernoe, the phosphate anion concentrations were rather similar between lakes. As such, the difference in  $P_{\text{tot}}$  behavior is due to its limitation by organo-ferric colloids rather than due to phytoplankton uptake of P in the Trisino Lake.

### **2.2.6.2 Diurnal pattern of CO<sub>2</sub> concentration and flux**

Although the present study is probably the first that documents significant diel variations of pCO<sub>2</sub> flux using direct chamber measurements in humic thermokarst lakes of permafrost peatlands, our findings are in general agreement with large body of studies in non-permafrost rivers and lakes showing similar pattern of decreased CO<sub>2</sub> during daylight hours (Bott et al., 2006; Guasch et al., 1998; Naiman, 1983; Parker et al., 2010; Rocher-Ros, 2019; Vale et al., 2018; Vesala et al., 2006) and highest values in the early morning (Dawson et al., 2001; Reiman and Xu, 2019; Yang et al., 2019). The pCO<sub>2</sub> and FCO<sub>2</sub> diel patterns in permafrost peatland waters confirm the hypothesis that the high-DOC lake exhibits weaker response to temperature and light variations compared to the low-DOC lake.

The diel variabilities of net ecosystem production and related CO<sub>2</sub> effluxes are mostly pronounced in oligotrophic lakes (Liu et al., 2016; Spafford and Risk, 2018). In such DOC-poor lakes, the community respiration rates can vary by an order of magnitude, yielding up to 3 mg L<sup>-1</sup> diel changes in DOC concentration and being strongly linked to diel oscillations in water temperature (Bogard et al., 2019). In other cases, the typical variations of DOC concentrations linked to bacterio-plankton respiration are much lower (for example, 0.1 to 0.3 mg L<sup>-1</sup> over 5 h of night time, Sadro et al., (2011)). In contrast, at the high level of DOC in humic thermokarst lakes of peatlands, the 0.1 to 0.3 mg L<sup>-1</sup> diel variations in DOC cannot be resolved with sufficient precision. Indeed, the 0.3 g C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup> variation in CO<sub>2</sub> flux observed in this work (Figure 2 - 9B) corresponds to a 0.3 mg L<sup>-1</sup> variation in DOC concentration (due to bacterial metabolism or photolysis) in a lake of 1 m depth. In shallower, 30-cm deep thaw ponds like Chernoe, the effect of DOM processing the water column capable to produce the observed CO<sub>2</sub> flux is 3 times higher, but still does not exceed 1 mg L<sup>-1</sup> of DOC. Such low effects can be hardly resolved at high DOC level of studied ponds (15 to 35 mg L<sup>-1</sup>). At the same time, the role of DOM photolysis as a cause of CO<sub>2</sub> emission in subarctic waters (Bowen et al., 2020; Cory et al., 2014) can be weakly pronounced in permafrost peatlands because the acidic humic waters of thermokarst lakes from frozen peatlands are highly resistant to photo-degradation (Shirokova et al., 2019a). This is further confirmed by the fact that the concentrations of

photo-sensitive components (SUVA<sub>254</sub>, Fe, Mn) remained conservative with less than 10% variations during full period of observations (**Figure 2 - 8D, Figure 2 - S9 A and B**). It is also possible that the photo-oxidation of DOC to CO<sub>2</sub> occurring during the day ([Bertilsson and Tranvik, 2000](#); [Cory et al., 2014](#)) is masked by CO<sub>2</sub> consumption due to benthic photosynthesis, as it was suggested in some Arctic streams ([Rocher-Ros, 2019](#)).

We therefore hypothesize that the respiration of organic matter in sediments (benthic microbial metabolism), rather than DOM processing in the water column are mainly responsible for high FCO<sub>2</sub> in general, as it was recently shown in a small catchment on peat soils in boreal zone ([Demars, 2019](#)). The CO<sub>2</sub> uptake during day time may be linked to macrophytes and submerged mosses that partially colonize the bottom of shallow thermokarst lakes and thaw ponds in this region ([Pokrovsky et al., 2014](#)), as it is also known in other Arctic lakes ([Bouchard et al., 2014](#); [Squires et al., 2009](#); [Tank et al., 2011](#)). In this regard, the diurnal pattern of pCO<sub>2</sub> and FCO<sub>2</sub> can be interpreted as a result of a balance between sediment respiration and GPP of periphyton, aquatic plants and submerged mosses. As for the external supply of CO<sub>2</sub> from surrounding soils to the lake water (*via* suprapermafrost flow, [Raudina et al., \(2018\)](#)), the variation of this factor counteracts the observed pCO<sub>2</sub> pattern because the maximal soil water input due to ice thaw is likely to occur during the highest air temperature (late afternoon) which corresponds to minimal pCO<sub>2</sub> level in the lake waters. Similarly, convective mixing is unlikely to contribute to the CO<sub>2</sub> emission pattern because, during period of observation at the anticyclonic weather, the pCO<sub>2</sub> and FCO<sub>2</sub> were strongly correlated ( $r^2 = 0.90$ ,  $p < 0.01$ ) and the wind speed during the anticyclone remained quite low and did not vary between day and night.

### ***2.2.6.3 Consequences for global CO<sub>2</sub> emission, and C and metal pools assessment in thermokarst lakes of Western Siberia Lowland***

The observed stability of most dissolved component concentrations in thermokarst lakes of permafrost peatlands has important implication for the evaluation of pools and fluxes of C and related elements. Highly conservative behavior of DOC, DIC, CH<sub>4</sub>, nutrients, major and trace elements, notably micro-nutrients (except Zn), toxicants and geochemical traces during two days and nights of monitoring demonstrates the representability of one single sampling during the day or night for assessing seasonal (week, month - averaged) behavior of solutes in thermokarst lakes of frozen peatlands. In particular, the pools of DOC and element calculated

in thaw ponds and thermokarst lakes of the whole territory of Western Siberia, based on single-point sampling (Polishchuk et al., 2018), provides reasonable approximation for the summer time period. This conclusion corroborates results on diel and seasonal variability of dissolved components in N. American subarctic lake (Johnston et al., 2019).

In contrast, systematically higher  $FCO_2$  during the night compared to the day may require some corrections on global estimations of  $CO_2$  emissions from lakes and ponds of frozen peatlands. The majority of available measurements on thermokarst lakes and thaw ponds were performed during day-time, without accounting for possible diurnal cycle (see Shirokova et al., (2019) and references therein). Considering full duration of unfrozen period on lakes of discontinuous permafrost zone of WSL (mean multi-annual of 137 days, from May 25 to October 7), the nighttime represents 30% of the ice-free period. The enhanced  $FCO_2$  during the night from small thaw ponds ( $< 2,000 \text{ m}^2$ ) such as Lake Chernoe thus increases the average emission from  $0.10$  to  $0.20 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . However, because the contribution of such ponds to overall water area is negligibly small ( $< 1\%$ , Polishchuk et al., (2018)), this does not affect the regional C emission balance. In contrast, medium and large thermokarst lakes ( $> 1\text{-}10 \text{ ha}$ ) provide the main water surfaces and  $CO_2$  aquatic pools in WSL (Polishchuk et al., 2018). In these lakes, the day-time  $FCO_2$  in summer could fluctuate around zero ( $\pm 0.02 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) but rise to  $0.25 \pm 0.05 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  at the end of the night as it is observed in the Trisino Lake.

The median day-time  $CO_2$  flux from lakes of discontinuous permafrost zone of the WSL in summer is  $0.74 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  but ranges from  $-0.3$  to  $3.13 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  during day time (calculated based on data of 21 lakes in the region, Serikova et al., (2019)). Although the variations of  $CO_2$  flux between individual lakes may strongly exceed the effect of diurnal cycle, a  $0.2 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  increase between day and night may produce sizeable increase in seasonal emission fluxes. Therefore, given the scarcity of diurnal observations on large lakes and the absence of data on night-time emission during ice-off and ice-on periods (when the emission is sizably higher than in summer, Serikova et al., (2019)), the quantification of the night-time  $CO_2$  emission at the regional level over full open water period of the year is of high priority.

### **2.2.7 Conclusion**

We observed stable pH, SUVA<sub>254</sub> and concentrations of DOC, nutrients, carboxylic acids, most major and trace elements in waters of acidic and humic thermokarst lake and thaw pond during a continuous 2-days observation at generally anticyclone weather. In contrast, the CO<sub>2</sub> concentration and emission negatively correlated with water temperature and exhibited clear diurnal pattern with a maximum after the sunrise (minimal surface water temperature) and a minimum during late afternoon day-time (maximum surface water temperature). Among major drivers of observed CO<sub>2</sub> variation, we exclude photosynthetic/heterotrophic activity of the plankton in the water column and photolysis of DOM. Rather, the balance between benthic respiration of dissolved and particulate organic matter and primary productivity of periphyton, aquatic macrophytes and submerged mosses was responsible for enhanced CO<sub>2</sub> emission during the night and CO<sub>2</sub> decrease or even uptake during the day. Neglecting night-time CO<sub>2</sub> flux, especially in large thermokarst lakes, can sizably underestimate the region-upscaled global C emission. This calls for a need to study diurnal variations in C emission in large (10-500 ha) thermokarst lakes because they mostly contribute to overall inland water surface of the region. These measurements should be focused on late summer and autumn periods when the heterotrophic respiration dominates over primary productivity and the diurnal cycles are most pronounced.

### **2.2.8 Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse**

- Dans la partie « 2.2.3 – Introduction » :

À la phrase « Further, we anticipate that the higher the DOC in a peatland lake, the smaller will be the response of water column hydrochemistry to diel variations in light and temperature » il semble nécessaire de préciser l'origine de cette hypothèse.

La forte présence de COD dans les eaux est souvent accompagnée de composées chromophoriques obscurcissant les eaux des lacs et empêchant ainsi les photons de pénétrer dans la colonne d'eau. En limitant cette pénétration c'est le développement des organismes autotrophes qui est par là même limité. Ainsi durant la journée, les fortes concentrations en COD limitent la photosynthèse (processus puits de CO<sub>2</sub>). Cette dernière contre balance la minéralisation du carbone (processus de production de CO<sub>2</sub>) dans les eaux des lacs. Sans ce



processus de photosynthèse seule la minéralisation du carbone régira les flux de CO<sub>2</sub> durant la nuit et le jour. Ainsi, il est attendu que les variations journalières auront un effet moins important sur les eaux riches en COD de part le déséquilibre de cette balance photosynthèse/minéralisation.

- Dans la partie « 2.2.4 – Material and Methods » :

Concernant la mesure de la pression partielle de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>), des informations supplémentaires sont demandées sur le temps de réponse de la membrane perméable aux gaz qui entoure la sonde de pCO<sub>2</sub>. La membrane ne permet pas d'observer des changements rapides de valeurs. Les valeurs de la sonde s'équilibrent en 10 à 15 minutes.

- Dans la partie « 2.2.5.1 – Lack of diel variations in major lake water parameters, nutrients, trace elements and bacteria » :

Précisant que les périodes de nuit indiquées sur la **Figure 2 – 8**, correspondent aux heures de couché et de levé du soleil données par les relevés météorologiques de la région.

- En général :

Une des grandes hypothèses de cette étude et le mélange homogène de la colonne d'eau durant la nuit et le jour. Il a été démontré récemment par l'une de rapportrice de cette thèse et ses collaborateurs (Laurion et al., 2020) que des variations de températures (même faibles), pouvant se produire au coucher et au lever du soleil, peuvent entraîner la stratification des eaux d'un lac et accumuler le CO<sub>2</sub> à la base de la colonne d'eau. Il semble donc nécessaire de prendre en compte la colonne d'eau entière des lacs et pas seulement un point de mesure dans celle-ci durant les prochaines études menées sur les variations journalières.



# *Chapitre 3*

## *Dissolved organic matter biodegradation along a hydrological continuum in permafrost peatlands*

**Ref.:** Payandi-Rolland, D., Shirokova, L.S., Tesfa, M., Bénézech, P., Lim, A.G., Kuzmina, D., Karlsson, J., Giesler, R., Pokrovsky, O.S., 2020. Dissolved organic matter biodegradation along a hydrological continuum in permafrost peatlands. *Science of The Total Environment* 141463. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141463>

**Data set:** available with the DOI: 10.17632/k9j72kj6js.1#file-c188320e-d4ef-4584-911e-85440801d274

### **CRediT authorship contribution statement:**

**D. Payandi-Rolland:** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.

**L.S. Shirokova:** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.

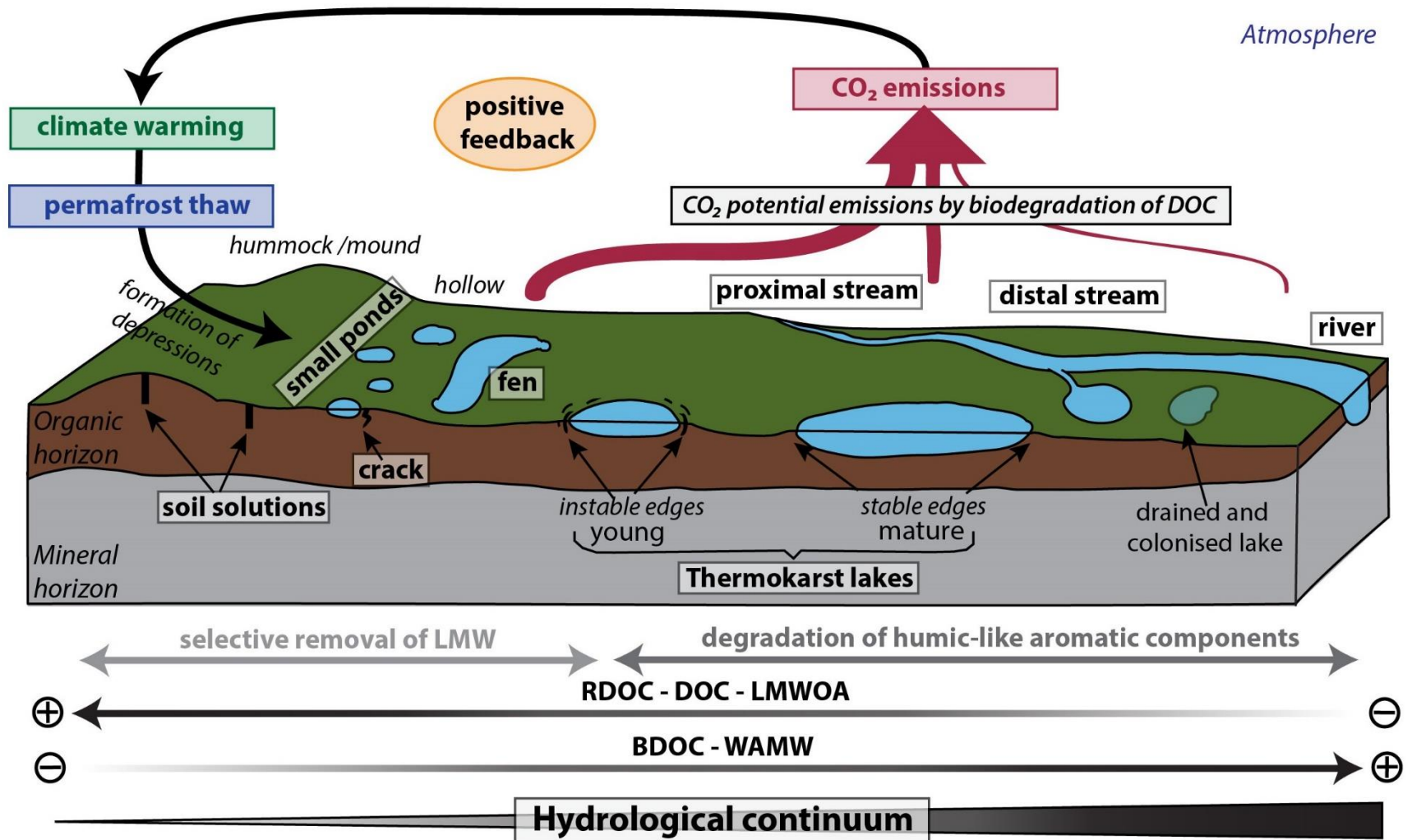
**M. Tesfa:** Investigation. **P. Bénézech:** Writing – original draft. **A.G. Lim:** Investigation.

**D. Kuzmina:** Investigation. **J. Karlsson:** Conceptualization, Writing - original draft.

**R. Giesler:** Conceptualization, Writing - original draft.

**O.S. Pokrovsky:** Conceptualization, Writing - original draft

# 3.1 Résumé graphique / Graphical abstract



## 3.2 *Aperçu en français de l'article*

### 3.2.1 *Résumé*

Les régions arctiques contiennent de grandes quantités de carbone organique (CO) piégées dans les sols et le pergélisol des tourbières. Avec le changement climatique, une partie de ce CO est relarguée dans le système aquatique et dégradée par les micro-organismes. Cette dégradation peut engendrer une rétroaction positive due aux émissions de carbone (C). Dans les zones de tourbières, il existe une grande hétérogénéité spatiale des plans d'eau qui sont définis par leur position dans le paysage et par le temps de résidence des eaux. Ces hétérogénéités constituent le continuum hydrologique (CH), *i.e.* l'ensemble des plans d'eau par lesquels l'eau transite : des dépressions aux lacs, en passant par les petits étangs, jusqu'à atteindre les derniers systèmes recevant : les ruisseaux et les rivières. Pourtant l'effet de cette hétérogénéité sur le relargage de CO du sol et sa biodégradation dans les eaux est largement méconnue et n'est pas prise en compte dans les modèles de prédiction du cycle du C des régions arctiques. Cette étude s'intéresse à la biodégradation du carbone organique dissous (COD) des systèmes aquatiques le long de deux CH situés en zone de pergélisol discontinu : en Sibérie occidentale et au Nord de la Suède. Le COD biodégradable (BDOC<sub>15</sub> : % de perte de COD à 15 jours d'incubation par rapport à la concentration initiale en COD incubé à 20°C) varie entre 0 et 20 % dans les petits plans d'eau situés au début du CH (solutions des sols, petits étangs, marais et lacs) et entre 10 et 20 % pour les ruisseaux et les rivières. Alors que le BDOC augmente, le taux de retrait du COD diminue le long du CH. Le potentiel maximum de production estimé de CO<sub>2</sub> issu de la biodégradation du COD ne peut expliquer qu'une petite partie des émissions *in-situ* de CO<sub>2</sub> mesurées dans les systèmes aquatiques des tourbières du Nord de la Suède et de la Sibérie occidentale. Cela suggère que d'autres sources, telles que la respiration des micro-organismes provenant du sol et des sédiments, contribuent largement aux émissions de CO<sub>2</sub> des eaux de surfaces des petits plans d'eaux des tourbières à pergélisols. Nos résultats soulignent l'importance de prendre en compte la large hétérogénéité des concentrations et de biodégradabilité du COD afin de quantifier le CO des plans d'eau arctiques sensibles au dégel du pergélisol.

### **3.2.2 Conclusion**

Les expériences de biodégradation montrent une tendance à la décroissance du taux de COD retiré (*i.e.* dégradé) le long du continuum hydrologique (CH), allant des solutions de sols aux lacs, ruisseaux et rivières dans les régions de pergélisol discontinu des tourbières de la Sibérie occidentale et du Nord de la Suède. Alors que nous avons émis l'hypothèse d'une décroissance de la biodégradabilité des eaux le long du CH, le BDOC augmente du début à la fin du CH. Cela peut être lié à la dégradation préférentielle de composés labiles et à faibles poids moléculaires de la matière organique dissoute (MOD). Ces composés sont susceptibles d'être les premiers à être utilisés compte tenu de l'apport de COD « frais » aux stades initiaux du CH. La biodégradabilité de la MOD rapportée dans cette étude (0 à 20 %) suggère que la majorité du C biodégradable est dégradée avant son arrivée dans les larges plans d'eaux, voir même avant d'atteindre les eaux de surfaces. Nous suggérons aussi que la biodégradation contribue à une partie des émissions de CO<sub>2</sub> provenant des eaux de surfaces des tourbières étudiées mais que d'autres sources sont probablement à l'origine d'une contribution plus importante, telles que la respiration du carbone organique particulaire et dissous issu des sols et des sédiments, la photodégradation et la photo-stimulation de la respiration microbienne. Des mesures simultanées du BDOC et des émissions de CO<sub>2</sub> sur le terrain sont nécessaires afin de comprendre l'importance quantitative de la dégradation *in-situ* de MOD dans les émissions de CO<sub>2</sub> vers l'atmosphère. En considérant l'utilisation rapide de la MO au début du CH et l'augmentation de la biodégradabilité de cette MO le long de ce même continuum, cette étude souligne l'importance de prendre en compte la large hétérogénéité spatiale des environnements aquatiques dans les régions de tourbières à pergélisols, ce qui est nécessaire dans les modèles expliquant le cycle du C.

### 3.3 *Abstract*

Arctic regions contain large amounts of organic carbon (OC) trapped in soil and wetland permafrost. With climate warming, part of this OC is released to aquatic systems and degraded by microorganisms, thus resulting in positive feedback due to carbon (C) emission. In wetland areas, water bodies are spatially heterogenic and separated by landscape position and water residence time. This represents a hydrological continuum, from depressions, smaller water bodies and lakes to the receiving streams and rivers. Yet, the effect of this heterogeneity on the OC release from the soil and its processing in waters is largely unknown and not accounted for in C cycle models of Arctic regions. Here we investigated the dissolved OC (DOC) biodegradation of aquatic systems along a hydrological continuum located in two discontinuous permafrost sites: in western Siberia and northern Sweden. The biodegradable dissolved OC (BDOC<sub>15</sub>; % DOC lost relative to the initial DOC concentration after 15 days incubation at 20°C) ranged from 0 to 20% for small water bodies located at the beginning of the continuum (soil solutions, small ponds, fen and lakes) and from 10 to 20% for streams and rivers. While the BDOC<sub>15</sub> increased, the removal rate of DOC decreased along the hydrological continuum. The potential maximum CO<sub>2</sub> production from DOC biodegradation was estimated to account for only a small part of *in-situ* CO<sub>2</sub> emissions measured in peatland aquatic systems of northern Sweden and western Siberia. This suggests that other sources, such as sediment respiration and soil input, largely contribute to CO<sub>2</sub> emissions from small surface waters of permafrost peatlands. Our results highlight the need to account for large heterogeneity of dissolved OC concentration and biodegradability in order to quantify C cycling in arctic water bodies susceptible to permafrost thaw.

## 3.4 Introduction

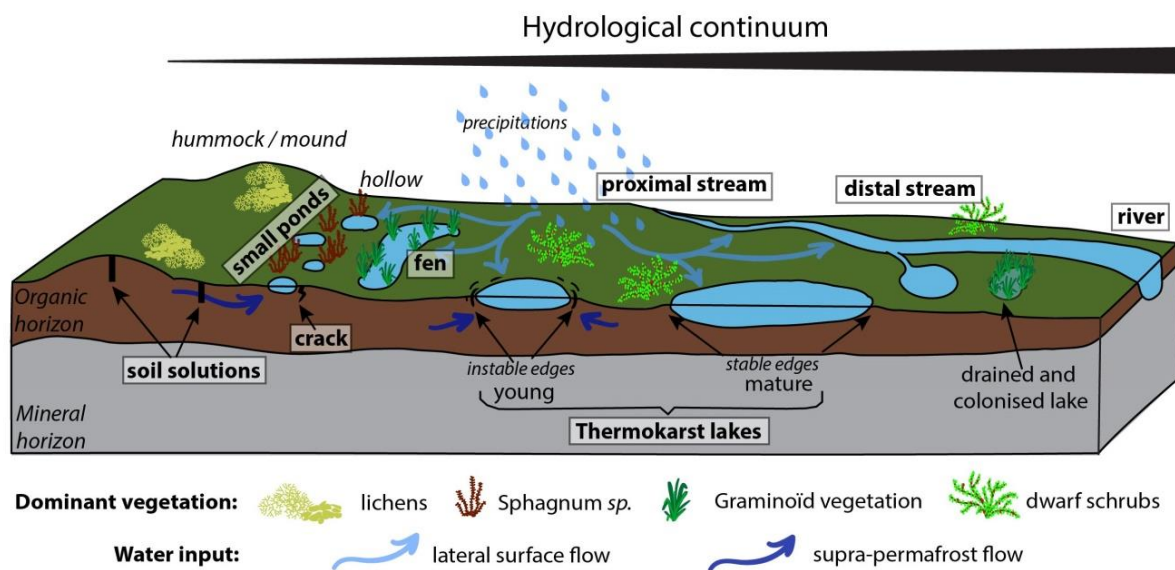
The carbon (C) released from thawing permafrost is biotically and abiotically processed in aquatic systems (Abbott et al., 2016; Cory and Kling, 2018; Mann et al., 2015). However, the degree and intensity of this processing are strongly variable both in space (local to global scale) and time (day/night to season) and not explicitly accounted for in global modelling of permafrost-carbon-climate feedback. The spatial variability includes the various types of water bodies of those regions, all belonging to the hydrological continuum (**Figure 3 - 1**). Globally, the concept of 'hydrological continuum' (Creed et al., 2015; Palmer et al., 2016) includes the movement of water from sources (soil and supra-permafrost waters) to intermediate reservoirs (lakes and streams) and finally into terminal reservoirs (large rivers and their estuaries). In Arctic regions, the hydrological continuum (HC) is highly dependent on the maturation cycle of water bodies. All steps of HC are especially important as they can influence the biochemical properties, photo- (Panneer Selvam et al., 2019) and biodegradability (Liu et al., 2019; Vonk et al., 2015a) of dissolved organic matter (DOM). Since the transport of thawed permafrost organic C can spatially relocate the emissions of greenhouse gases (Vonk and Gustafsson, 2013), the heterogeneity of waterbodies observed along a hydrological continuum is a key point to understand the C cycle in these regions.

Dissolved organic carbon (DOC) is the main form of terrestrial organic carbon (OC) exported to soil solution, rivers, wetlands and lakes (Chapin et al., 2006; Cole et al., 2007). This is especially true in the case of discontinuous permafrost regions, where the hydrologic flow paths have longer residence times and allow a greater degree of DOC processing during lateral transport (Olefeldt and Roulet, 2014, 2012; Tang et al., 2018; Walvoord and Striegl, 2007). For these reasons, coupled aquatic-soil studies of organic matter (OM) in continuous-discontinuous permafrost regions are needed (Vonk et al., 2019). The importance of surface waters from frozen peatlands in DOC processing and CO<sub>2</sub> emissions motivated numerous studies of aquatic DOM (Hulatt et al., 2014; Manasypov et al., 2015; Mann et al., 2012, 2015; Peura et al., 2020; Pokrovsky et al., 2016; Shirokova et al., 2019a). The latter study in NE European tundra peatlands demonstrated weak biodegradation of DOM along a hydrological continuum from peatland subsidence to a large river (Pechora) and suggested that CO<sub>2</sub> emission from surface waters could be explained either by sediment respiration or by fast



processing of fresh supra-permafrost flow delivered from peat pore water and thawing soil ice. As such, to quantify overall DOM biodegradation potential in Arctic peatland waters, it is necessary to study the full continuum of surface fluids, from the soil and supra-permafrost waters to large lakes or river systems using universal techniques over large geographic coverage (Ma et al., 2019).

This study aimed to quantify the magnitude and controlling factors of DOM biodegradation potential along a hydrological continuum from soil water to medium-sized rivers and lakes located in a discontinuous permafrost area in western Siberia and northern Sweden. Strong seasonal variability in the high latitude C cycle is well known (Gao et al., 2019; Li et al., 2019). Yet, this study was carried out during baseflow period (July to October) when the quality and quantity of the DOC in waters are most stable (Chupakov et al., 2020; Holmes et al., 2012; Manasyov et al., 2015; Neff et al., 2006; Olefeldt and Roulet, 2012; Tang et al., 2018). Our working hypothesis is that the BDOC decreases along the HC (with the preferential degradation of easily biodegradable C molecules) and that the amplitude of this decrease depends on landscape context and the DOM origin. To test this hypothesis, we carried out aerobic biodegradation experiments (following Vonk et al., 2015a) and monitored resulting changes in DOM quantity and quality. We further compared the possible contribution of DOM biodegradation along the HC to published CO<sub>2</sub> emission from the surface waters representative of the study regions.



**Figure 3 - 1 :** Schematic of a hydrological continuum in the discontinuous permafrost region.

The hydrological continuum represents a progression of wetland water habitats from gravitational soil water in soil pits and cracks to small ponds, fens, lakes, streams and rivers.

While the soil solutions represent the upper end of the continuum the rivers are the receiving system at the other end of the transition. Note that either the vertical or horizontal scales are not representative.

## ***3.5 Materials and methods***

### ***3.5.1 Geographical, climatic and hydrological setting of sampling sites***

In high latitude continental planes, the permafrost thaw leads to the formation of “thermokarst” (thaw) lakes resulting from the soil ice melt and the permafrost subsidence in frozen wetlands. The formation and development of thermokarst lakes appeared to follow a cycle (Kirpotin et al., 2009; Pokrovsky et al., 2011) and is an important part of the hydrological continuum of the region (**Figure 3 - 1**). The cycle starts with the subsidence of thawing soil forming a depression and filled by high molecular weight OM rich thaw water. The size of the depression grows due to the ongoing subsidence of peat soil and the active abrasion of edges until it reaches a lake size (thermokarst lake) with stable edges, that can be eventually drained into another lake or streams and rivers. The vegetation can then colonize the drained lake bottom and gradually the permafrost will be renewed, and the cycle can start over again by the formation of a wet depression. Lichens mostly dominate in mounds, while sphagnum type colonizes depressions, and graminoids can be found in fens and drained lakes.

The two selected study sites are located in the arctic/subarctic region, within a discontinuous permafrost area. Their detailed description can be found elsewhere (Åkerman and Johansson, 2008; Brown et al., 1997; Raudina et al., 2018). The Siberian study site (referred to as Khanymey, **Figure 3 - S 1** in supplementary), is located near the town of Khanymey (63°47' N; 75°32' E) in a northern taiga, with a mean annual temperature of -5.6 °C and precipitation of 540 mm. The palsa peat bogs have a peat thickness of 0.1 to 1.4 m and the active (unfrozen) layer thickness (ALT) is around 90 and 215 cm under the surface of mounds and hollows, respectively. The vegetation on the mounds is dominated by dwarf shrubs (*Ledum* ssp., *Betula nana*, *Andromeda polifolia*, *Vaccinium* ssp., *Empetrum nigrum*), lichens (*Cladonia* ssp., *Cetraria*, *Ochrolechia*) and mosses, while the hollows are covered by moss-sedge associates (grasses *Eriophorum russeolum*, *E. vaginatum*, *Carex rotundata*, *C. limosa*, *Menyanthes trifoliata*, *Comarum palustre*; mosses *Sphagnum. balticum*, *S. majus*, *S. lindbergii*, *S. warnstorffii*) and dwarf shrubs, such as *Oxycoccus palustris* (Raudina et al., 2018).

In Khanymey, we have chosen seven locations that belonged to a HC. They were sampled in July 2018 and used as substrates for incubation. We sampled two supra-permafrost waters from peatland, one on a mound and one on a hollow (see sampling details in [Raudina et al., 2018](#)); two lakes: organic-rich Chernoe and organic-poor Trisino; two streams: the one close to the outlet of the lake and another one located far from this outlet (Lybydyakha); and finally one medium-size river Pyakopur that flows through peatland and forest ([Ala-aho et al., 2018](#)). Localization, surface, depth and physicochemical parameters of the seven sampled locations are presented in the supplementary **Tableau 3 - S 1**.

The second site is the Stordalen mire (68°21' N and 19°02' E) located in the vicinity of Abisko in Northern Sweden (**Figure 3 - S 2**). The ALT in the mire is approximately 0.5 to 1 m thick ([Åkerman and Johansson, 2008](#); [Klaminder et al., 2008](#)) and composed of 0.5 m of peat ([Malmer et al., 2005](#)) that overlays silty lacustrine sediment that has a glacial origin at depth ([Klaminder et al., 2008](#)). The mean annual temperature is -0.7 °C ([Kohler et al., 2006](#)) and the annual precipitation is 299 mm ([Petrescu et al., 2007](#)). The Stordalen mire is an ombrotrophic palsa that rises above semi-wet and wet minerotrophic fens, streams and shallow lakes ([Wik et al., 2013](#)). The hummock (*i.e.* the equivalent of mound structure in the Khanymey site) vegetation is dominated by lichens (*Cladonia* spp. and *Cetraria* spp. and mosses, such as *Sphagnum balticum* (Russ.) C. Jens.) in the bottom layer while *Eriophorum vaginatum* and *Empetrum hermaphroditum* dominated in the field layer. In the hollows, the field layer is dominated by graminoids such as *Carex rotundata*, *E. vaginatum* and *E. angustifolium* while the bottom layer consists of mosses, such as *S. balticum*, *S. fuscum* and carpet Bryatae ([Malmer et al., 2005](#)). Seven locations were sampled in the Stordalen mire in October 2018, before snowfall and ice-on: the soil solution of a hummock, the water from a crack at the edge of a small pond, the small pond itself, a fen, a lake (Villasjön, [Wik et al. \(2013\)](#)) and two streams, a proximal one, near the outlet of the lake and a distal one located at the border of the mire. Localization, surface, depth and physicochemical parameters of the seven sampled locations are presented in **Tableau 3 - S 1**. In the case of soil solution samples, a pit was made on hummock (/mound) or hollow. After a few minutes, gravitational (supra-permafrost) water from the surrounding soils was accumulated in the pit. This supra-permafrost water has been used for the experiment and named “soil solution” in the rest of this study.

### 3.5.2 *Experimental setup*

Each water sample was collected directly in a MilliQ-rinsed Nalgene® bottle and processed in less than 12 h after sampling following the protocol of [Vonk et al. \(2015a\)](#) and [Shirokova et al. \(2019a\)](#), employing the same filter units and membranes. All the manipulations were performed under sterile conditions. Waters collected in the field were first filtered through pre-combusted (4 hours at 450°C) GF/F filters (Whatman, nominal pore diameters: 0.7 µm, diameter 47 mm) using sterile filtration units (Millipore, 250 mL) and then incubated in sterile 60 mL amber glass bottles at  $20 \pm 2$  °C, without light exposure. To keep oxygenic conditions in incubation bottles, bottle caps were not completely tightened and bottles were manually shaken at least every two days. Each sampling included filtration through pre-combusted GF/F filters mounted on a Sartorius filter unit (25 mm diameter). The duration of incubation depended on field logistics and ranged from 30 days in Siberian waters to 15 days in Northern Sweden. Information on sampling date, replicate and the type of conducted analyses are listed in **Tableau 3 - S 2**.

### 3.5.3 *Analyses*

The pH (uncertainty of  $\pm 0.01$  pH units), conductivity ( $\pm 0.1 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) and absorbance (250 to 500 nm, 1 nm step; SpectraMax M5e Molecular Devices in Stordalen, and Eppendorf BioSpectrometer® basic in Khanymey) were measured within 1 h after the sampling. Fixation and/or storage methods for each type of delayed analysis are listed in Table S2. Water samples for DOC and fluorescence analyses were adjusted around pH = 2 using HCl, which removed the dissolved inorganic carbon (DIC) and minimize the quenching of fluorescence caused by metal complexation ([McKnight et al., 2001](#)). Fluorescence was measured according to [Roehm et al. \(2009\)](#) on a SpectraMax M5e. DOC and DIC were measured by a high-temperature thermic oxidation method using a Shimadzu TOC-VSCN analyzer, with an uncertainty of 2%. Organic acids and anions were measured by high-performance ionic chromatography (Dionex Ics-5000<sup>+</sup>). Total bacterial cells (TBC) concentration was measured by flow cytometry (Guava® EasyCyte™ systems, Merck) using 1 µL of 10 times diluted SYBR GREEN (Merck) marker, added to 250 µL of each sample before analysis. The typical uncertainty on these measurements was between 10 and 20%.

### 3.5.4 *Data treatment*

The biodegradability of DOC (BDOC) was determined using commonly used equations proposed by [Vonk et al. \(2015a\)](#) (**Tableau 3 - S 3**). This gives the relative proportion of the biodegradable DOC in relation to the initial DOC concentration (**Tableau 3 - S 3**). The apparent removal rate of DOC (RDOC) was calculated as the slope of linear regression for the incubation time (RDOC, **Tableau 3 - S 3**). As the biodegradation of Khanymey and Stordalen did not last the same amount of time (respectively 30 and 15 days), in the rest of the article the RDOC and BDOC values were calculated at 15 days of incubations to allow a direct comparison between the two sites (*i.e.* BDOC<sub>15</sub> and RDOC<sub>15</sub>). Absorbance data ([Peacock et al., 2014](#); [Weishaar et al., 2003](#)) were used to assess the (*i*) the molecular weight of the DOC by the weight average molecular weight index (WAMW), (*ii*) the humification of DOM by the E2:E4 ratio and (*iii*) the relative amount of aromatic components by the specific UV absorbance at 254 nm (SUVA<sub>254</sub>) (**Tableau 3 - S 3**). The Fluorescence index (FI) ([McKnight et al., 2001](#)), was calculated to separate DOC from a terrestrial origin (FI<1.4) than DOC from a microbial origin (FI > 1.4, [Cory et al., 2010](#); [Roehm et al., 2009](#)) as detailed in **Tableau 3 - S 3**.

Statistical treatment of the data included least-square linear regression and Pearson correlation to assess the evolution of parameters during incubation. To compare the biodegradation in waters within and between each HC principal component analysis (PCA) was used. Input data included initial chemical and biological parameters of waters that are hypothesized to contribute to the variation of BDOC<sub>15</sub> and RDOC<sub>15</sub> of waters: DOC, TBC, WAMW, E2:E4 ratio, pH, PO<sub>4</sub>-P, SUVA<sub>254</sub>, conductivity and some organic acids concentrations (acetate, lactate and formate). The statistics were performed using R software (version 3.6.1) with “FactoMineR” and “factoextra” packages. All measured incubation parameters are provided in the Mendeley Data Repository ([Payandi-Rolland, 2020c](#)).

## 3.6 *Results*

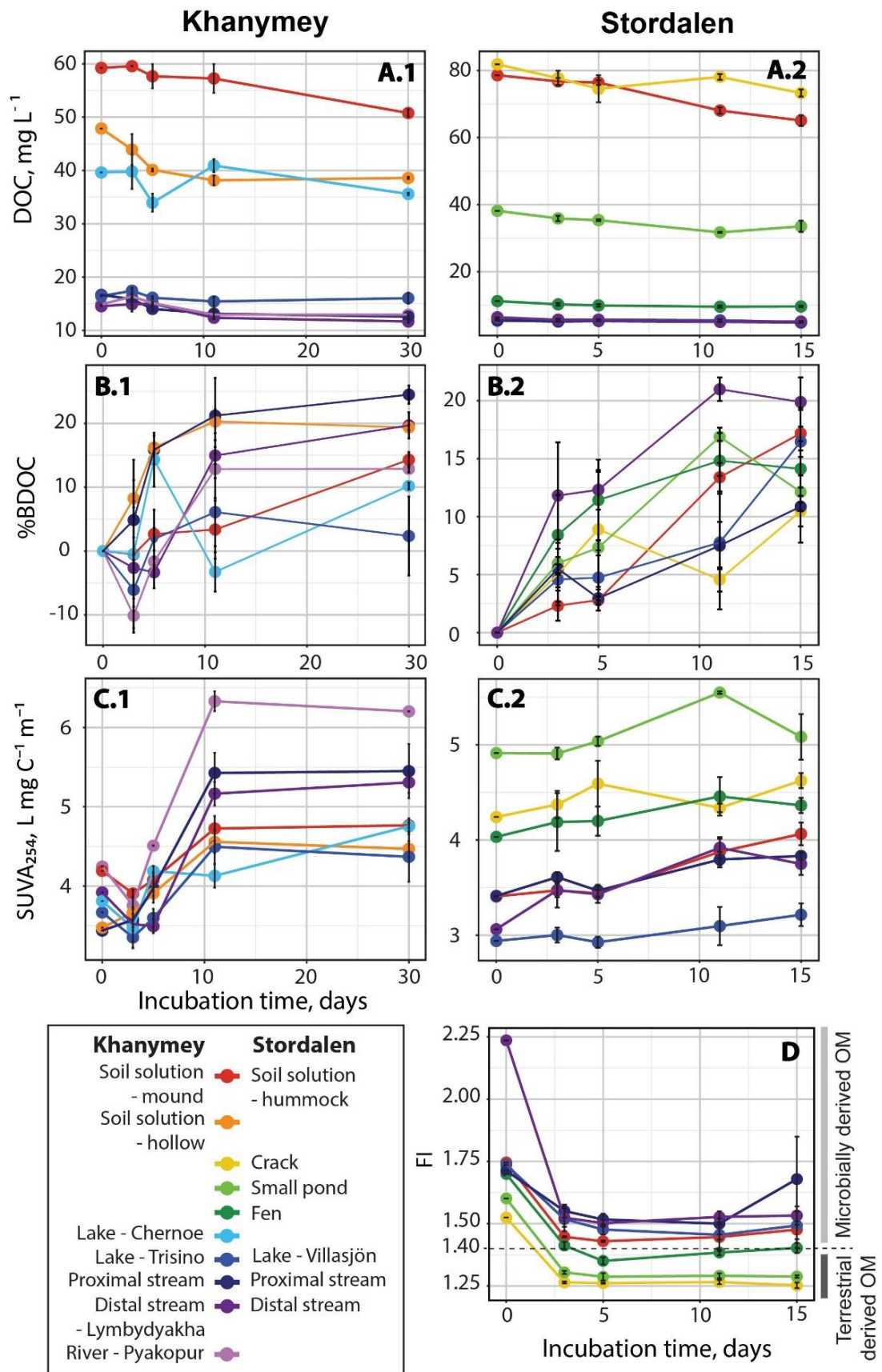
### 3.6.1 *Inorganic water chemistry at the beginning of incubation*

In Khanymey water at day 0 of incubation, the pH increased along the HC (from soil solution - mound at 4.2 to the Pyakopur river at 6.0). Specific conductivity ranged from 15 to 47  $\mu\text{S cm}^{-1}$  in the proximal stream and in the soil solution sampled at the mound, respectively.

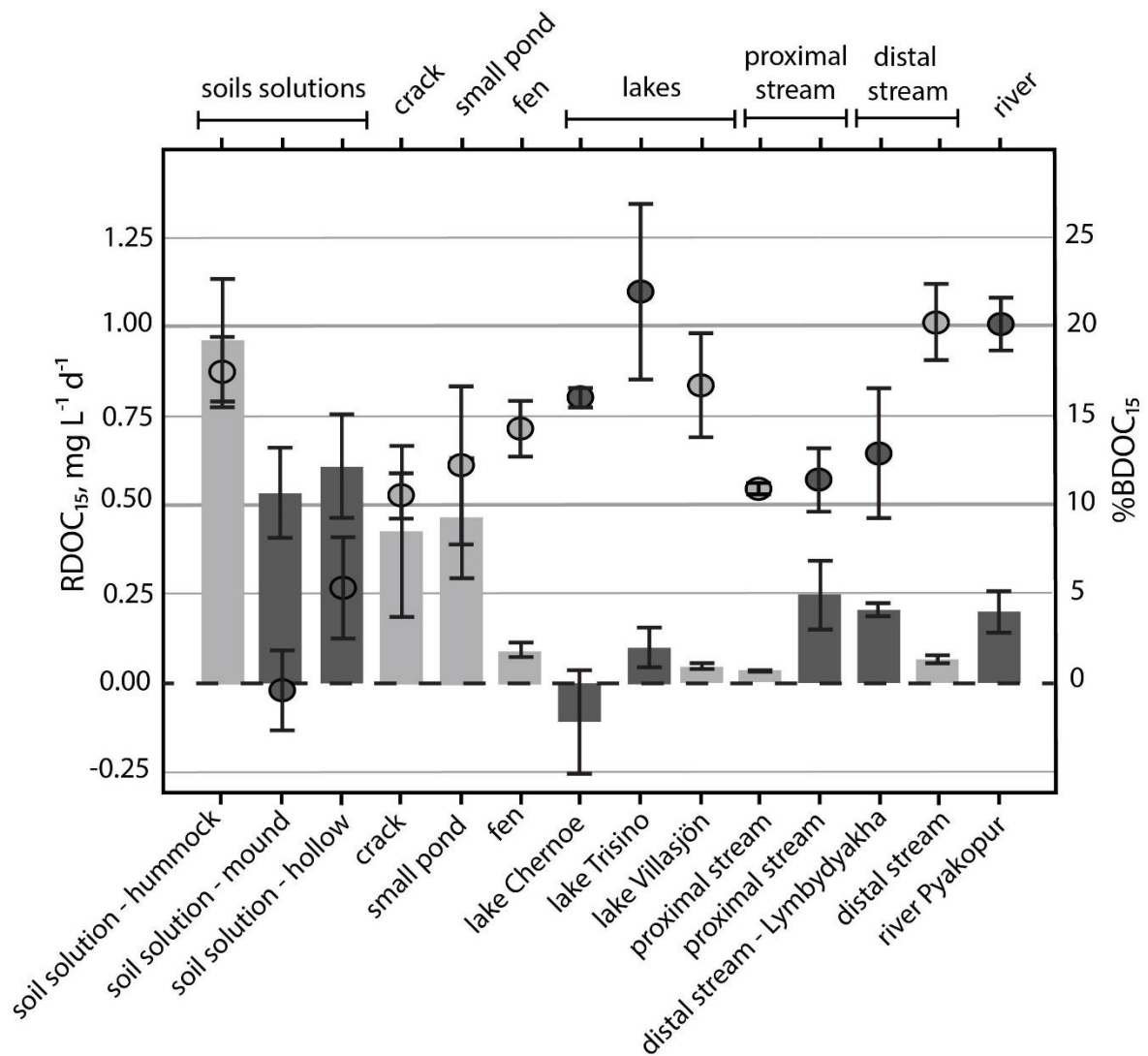
The DIC concentration of all waters was lower than 1.1 mg L<sup>-1</sup> (supplementary **Tableau 3 - S 1**). In Stordalen, the pH of waters increased along the HC (from 4.1 at the crack to 7.2 at the distal stream and Villasjön Lake). The specific conductivity ranged from 26 to 100 µS cm<sup>-1</sup> in the fen and in the soil solution from the hummock, respectively. The DIC concentrations ranged from 1.7 (small pond) to 4.6 mg L<sup>-1</sup> (proximal stream; supplementary **Tableau 3 - S 1**).

### **3.6.2 Biodegradation of DOC**

The DOC concentration of the Khanymey site showed high initial DOC values for waters located at the beginning of the HC (*i.e.* soil solution at the mound and hollow, and the Lake Chernoe, **Figure 3 - 2 A.1**). The DOC concentrations at the end of HC (*i.e.* lake Trisino, proximal and distal stream, and the Pyakopur River) were much lower and ranged between 14.5 and 16.7 mg L<sup>-1</sup>. The DOC concentrations showed a significant linear decrease ( $p < 0.05$ ,  $R^2$  ranging between 0.45 to 0.69) in all incubations, except for the soil solution from the hollow and both thermokarst lakes (**Figure 3 - 2 A.1**). The corresponding BDOC value increased in all incubations from day 0 to 30 (**Figure 3 - 2 B.1**). After 15 days of the experiment, the lowest BDOC<sub>15</sub> value was  $-0.4 \pm 2.3\%$  for the soil solution from the mound and the highest was  $21.9 \pm 4.9\%$  for the Trisino Lake (**Figure 3 - 3**). The rates of DOC removal over 15 days (RDOC<sub>15</sub>) with the highest rates in the soil solution from the hollow ( $0.61 \pm 0.1$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), and the lowest in lake Chernoe ( $-0.11 \pm 0.1$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) (**Figure 3 - 3** and **Tableau 3 - S 5**). Soil solution from the mound exhibited the highest concentration of low molecular weight organic acids (LMWOA), *i.e.* formate, lactate and acetate (**Tableau 3 - S 4**). Initial values of bacterial cell numbers (TBC) ranged from  $2.89 \times 10^5$  (Trisino Lake) to  $1.43 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup> (distal stream) (**Tableau 3 - S 1**). During the incubation, the bacterial concentration increased by 30% of the initial amount in the soil solution from the mound to 72% in the incubation of the distal stream (data not shown).



**Figure 3 - 2 :** DOC concentration (mg L<sup>-1</sup>, **A**), BDOC (%), SUVA (L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>, **C**) of the Khanymey (.1) and Stordalen (.2) hydrological continuum; and FI evolution of the Stordalen continuum during incubation time (**D**). Note that the total incubation time is 30 days for Khanymey continuum and 15 days for Stordalen continuum.



**Figure 3 - 3 :** The removal rate of dissolved organic carbon (RDOC<sub>15</sub>) of waters along the hydrological continuum (HC) after 15 days of incubations (bars and left y-axes). The filled circles show the biodegradable DOC (BDOC<sub>15</sub>) after 15 days of incubations from the same HC. The waters are from 15 locations across two HC's: one in northern Sweden (Stordalen; light grey fill for circle and bars) and one in western Siberia (Khanymey; dark gray for circle fill and bars). The sites are represented starting from the left with the upper end of the HC and the receiving systems to the right (see **Figure 3 - 1**). The error bars denote one standard deviation.

The DOC concentrations in the Stordalen waters were high at the beginning of the continuum (soil solution, hummock and crack), then decreased in the small pond, and became lower at the end of the continuum (fen, Villasjön Lake, proximal and distal stream) (**Figure 3 - 2 A.2**). The DOC concentrations significantly decreased during incubations. The corresponding BDOC values increased in all incubations from day 0 to 15 (**Figure 3 - 2 B.2**). The BDOC<sub>15</sub> ranged between 10.5 - 19.9% with the lowest values in the proximal stream and the crack, and the highest in the distal stream (**Figure 3 - 3**). The waters located at the beginning of the



continuum exhibited the highest RDOC<sub>15</sub> while the lower RDOC<sub>15</sub> values were observed for end-members of the HC (**Figure 3 - 3** and **Tableau 3 - S 5**). As for the Khanymey continuum, soil solution from the hummock contained much higher initial concentrations of acetate and formate compared with other incubated waters (**Tableau 3 - S 4**). During incubation, only the soil solution from the hummock showed a decrease (78%) in acetate concentrations. The initial TBC ranged from  $2.26 \times 10^3$  (distal stream) to  $3.76 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup> (crack) (**Tableau 3 - S 1**). During the incubation period, the lowest increase in TBC was obtained for the Villasjön Lake (49%) and the highest increase was measured for the distal stream (by a factor of 25, data not shown).

### 3.6.3 DOM optical properties

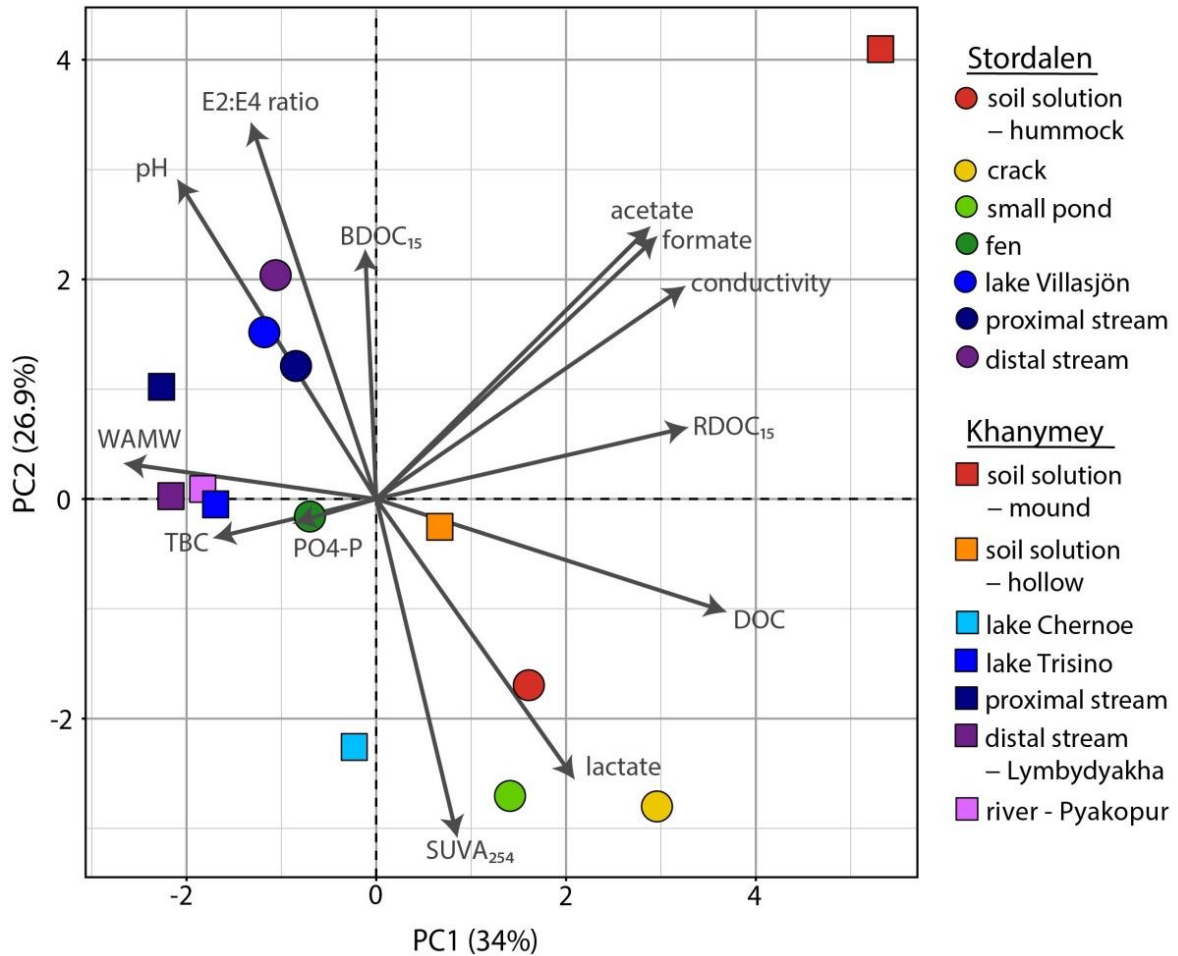
In the Khanymey continuum, the SUVA<sub>254</sub> ranged between 3.4 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> for the proximal stream to 4.2 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> for the river (**Figure 3 - 2 C.1**). The SUVA<sub>254</sub> increased in all samples during the incubations, with the lowest increase for the soil solution – mound (14%) and highest for the proximal stream (60%). The ratio E2:E4 increased with incubation time at the beginning of the continuum (both soil solutions and the Chernoe Lake) and decreased with time in waters located at the end of HC (from the Trisino lake to the Pyakopur River) (**Figure 3 - S 3A.1**). Normalized molecular weight (WAMW) allowed distinguishing 2 groups of samples (**Figure 3 - S 3B.1**). The first one included soil solutions from the mound and hollow and the Chernoe Lake, with stable values ranging between 516 - 526 and 526 - 540 Da from the beginning to the end of the incubation, respectively. The second group comprised all other water types of the continuum, with WAMW values increasing from 558 - 586 Da to 590 - 679 Da during the incubations.

In the Stordalen hydrological continuum, the SUVA<sub>254</sub> ranged between 2.9 and 4.9 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> at the beginning to 3.3 and 5.1 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup> at the end of the experiment (**Figure 3 - 2 C.2**). An increase in SUVA<sub>254</sub> of 12, 19 and 22% was observed during the incubation of the soil solution – hummock, proximal and distal stream. For the remaining samples of the Stordalen continuum, the increase in SUVA<sub>254</sub> was below 10%. The evolution of the ratio E2:E4 during incubations separated the systems in two groups (**Figure 3 - S 3 A.2**), i.e. one with stable values at the beginning of the HC (i.e. crack, small pond, fen, and soil solution), and one with oscillating values at the end of the HC (i.e. both streams and the lake). The lowest WAMW values were recorded for soil solution - hummock and crack with the initial and final values of 506-511 and 513-515 Da, respectively (**Figure 3 - S 3 B.2**). The highest values of WAMW were

obtained for the small pond and the proximal stream (initial: 625 to 716 Da, final: 662 to 779 Da). The fluorescence index (FI) of waters in the Stordalen HC ranged between 1.52 and 2.23 at the beginning of incubation for the crack and the distal stream, respectively (**Figure 3 - 2 D**). FI values decreased for all waters during incubation, with values < 1.40 for the crack, the small pond and the fen and slightly higher values for the proximal stream ( $1.67 \pm 0.2$ ) after 5 days of incubation.

### **3.6.4 PCA results**

The principal component analysis (PCA) performed on data from both hydrological continuums (**Figure 3 - 4** and **Tableau 3 - S 6**) showed that the component number 1 (PC1) explained 34.0% of the variation, with an important contribution of conductivity, DOC concentration, RDOC<sub>15</sub> and organic acids concentrations (acetate and formate). The PC2 explained 26.9% of the variations, with the largest contribution coming from E2:E4 ratio, SUVA<sub>254</sub>, pH and LMWOA concentration. The BDOC<sub>15</sub> appeared to be grouped with the pH and the E2:E4 ratio, whereas lactate, DOC, and SUVA<sub>254</sub> were on the opposite side of the plot. Acetate and formate concentrations and specific conductivity were grouped tight. No clear visual separation by study site could be seen. However, the end-member waters of both continuums were clustered in the upper left quadrant of the plot, while other waters, except the soil solution from the mound of Khanymey, were mostly located in the lower right quadrant.



**Figure 3 - 4 :** Biplot of the individual PCA on waters from Stordalen (circle) and Khanymey (square) hydrological continuum and variable correlation plot (black arrow).

## 3.7 Discussion

### 3.7.1 Evolution of the DOC removal rate and biodegradability along the hydrological continuum

The decreasing trend of RDOC<sub>15</sub> values observed along the HC, and the inverse trend for BDOC<sub>15</sub> values (**Figure 3 - 3**) suggest that the soil waters located at the beginning of the continuum contain rapidly processed DOC, while the lake and river waters, at the end of HC, contain slowly processed DOC. Drastic differences in RDOC<sub>15</sub> between the beginning and the end of the HC suggest that these changes across pore waters, supra-permafrost waters, surface small ponds and depressions of frozen peatlands, are primarily controlled by water residence time (Catalán et al., 2016; Obernosterer and Benner, 2004). Indeed, when the residence time of water is short, the decay rate of OC is believed to be governed by photo-

degradation and flocculation of OC (Catalán et al., 2016; Evans et al., 2017). Moreover, the labile parts of the DOM are likely to be firstly processed during the transition because the fresher DOC is delivered into the early stages of the HC.

The BDOC<sub>15</sub> of streams and rivers in both continuums ranged between 10 to 20% (Figure 3 - 3) which is generally consistent with the values obtained for Arctic riverine systems (typically 10 to 40%, Holmes et al., 2008; Mann et al., 2012; Wickland et al., 2012) and for waters of thawing and collapsing permafrost (10 to 40%; Abbott et al., 2014). Soil solutions, crack, small pond, fen and lake waters had a BDOC<sub>15</sub> ranging between 0 and 20%, which is consistent with the biodegradability of lake waters from the Stordalen mire (10 to 20%, Roehm et al., 2009). However, the biodegradability of fen leachate in the latter study ranged between 50 and 60%, which is 4 times higher than our values for the fen (~15%). Presumably, the fresh leachate used by Roehm et al. (2009) contained a higher concentration of bioavailable OM compared with natural, partially processed, fen waters used in this and other studies (*i.e.* Michaelson et al., 1998; Spencer et al., 2015; Wickland et al., 2007). The BDOC<sub>15</sub> values across the two continuums of this study are at the highest range of those reported in the HC of frozen peatlands of Northern Eurasia (between 0 to 10% for depression, thermokarst lake, river and stream, Shirokova et al., 2019) and also slightly higher than the BDOC of waters from discontinuous permafrost (5 to 15%, mean 14%) (Vonk et al., 2015a).

The PCA analysis allowed distinguishing two trends of biodegradability behavior linked to LMWOA: *i*) the BDOC<sub>15</sub>, which negatively correlated with lactate but was not linked to acetate and formate, and *ii*) the RDOC<sub>15</sub>; positively correlated to acetate and formate but which did not correlate with lactate. This could suggest that the initial concentration of acetate and formate influences the removal rate of DOC, because their presence triggers intensive microbial metabolism as it was also observed by Cappenberg et al. (1982). In contrast, the overall biodegradability of waters may be linked to the pattern of lactate which dominated in concentrations of LMWOA of both continuums.

### **3.7.2 Evolution of the DOC quality along the hydrological continuum**

The positive and negative correlation between E2:E4 spectral ratio and SUVA<sub>254</sub> respectively, with BDOC<sub>15</sub> observed by the PCA analysis (Figure 3 - 4), implies that an increase in the humification of DOM and a decrease in the concentration of aromatic components increase the biodegradable potential of DOM. The grouping of individual waters located at the end of both continuums in the upper left quadrant of the PCA biplot suggests that they

are influenced by the same variables (WAMW, TBC, pH and E2:E4 ratio). This is not observed for waters at the beginning of continuums, whose signals were widely spread on the biplot. Such a grouping of waters can be due to the mixing of large water bodies, receiving mostly lateral surface flow due to precipitation, while smaller water bodies are mainly supplied by lateral surface and supra-permafrost flow from thawing permafrost (**Figure 3 - 1**).

For the Stordalen continuum, a decreasing trend of FI in the course of incubation of each water of the HC (**Figure 3 - 2 D**) indicates either *i*) an increase in the terrestrially-derived OM or *ii*) a decrease in the microbially-derived OM (Cory et al., 2010; Mann et al., 2012). As no fresh vegetation leachate was added in our incubations, the observed decrease of FI values during the incubation of Stordalen waters corresponds to a relative decrease in the amount of microbially-derived OM compared to the overall amount of OM. This is at odds with the reported resistance of the bacterially-derived OM to the microbial degradation in freshwater (Kawasaki et al., 2013). We, therefore, hypothesize that the relative decrease of the microbially-derived OM occurred due to a lack of easily biodegradable terrestrial OM and the persistence of the most recalcitrant part of terrestrial OM, which is consistent with an increase in SUVA<sub>254</sub> and WAMW with the incubation time. Moreover, a recent study on the evolution of the DOM along a soil-stream-river continuum (Hutchins et al., 2017) demonstrated that soil-stream waters were a hot spot of DOM degradation, with selective removal of low molecular weight (LMW) components, whereas stream-river waters were more dominated by the degradation of humic-like aromatic components. This trend is also observed in our study, particularly for the Khanymey continuum in which the E2:E4 ratio (a proxy for humification degree) increased during incubation of waters located at the beginning of the HC and decreased with time for the waters at the end of the HC (**Figure 3 - S 2 A.1**). This is also in agreement with the rapid uptake of LMWOA observed during incubation (**Tableau 3 - S 4**). SUVA<sub>254</sub> of the Khanymey and Stordalen HC (up to 6.3 and 5.5 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>, respectively) are greater than most of the previously reported data of waters from depressions, lakes and river of discontinuous permafrost area (3.3 to 4.4 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>; Roehm et al., 2009; Shirokova et al., 2019), but comparable to the values of permafrost leachate (6.6 ± 0.1 L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>, Roehm et al.; 2009). Such high SUVA values reflect the dominance of allochthonous DOM of peat, providing the majority of DOC input to the water bodies.

### **3.7.3 Comparison between the hydrological continuum of Khanymey and Stordalen**

We note that there are somewhat higher levels of BDOC<sub>15</sub> in waters from the Stordalen peat mire compared with the Khanymey peatlands (10 to 20% and 0 to 20%, respectively, **Figure 3 - 3**). This difference cannot be attributed to the difference in seasons of sampling (July in Khanymey and October in Stordalen) because, even if seasons are known to play an important role in the BDOC, it has been shown that BDOC generally decreases as the Arctic summer progresses (Holmes et al., 2008; Mann et al., 2012; Vonk et al., 2015b; Wickland et al., 2012). Therefore, the effect of seasons would produce an opposite effect to that observed in this study. Moreover, the PCA revealed that the BDOC<sub>15</sub> is not correlated to the TBC (**Figure 3 - 4**). Thus, given the higher values of BDOC<sub>15</sub> and the lower values of TBC in Stordalen compared with Khanymey, we hypothesize that the biodiversity of microorganisms in the experiment, rather than the microbial number (TBC) impact the final BDOC of waters. It has been shown that the microbial community drastically and rapidly changes between summer and winter period with a syntrophic winter community having a higher potential for mobilizing and converting complex organic matter to more labile C sources (Vigneron et al., 2019). Consistent with this observation, our results show a smaller increase in the SUVA<sub>254</sub> (reflecting the presence of aromatic components, Hood et al. (2005); Neff et al. (2006)) during incubation of waters from Stordalen (12 to 22% increase) compared to Khanymey (14 to 58% increase) (**Figure 3 - 2 C**). In comparison, the biodegradation of peat water from the European boreal zone using the experimental approach similar to that of the present study, produced an increase in SUVA<sub>254</sub> by  $7.4 \pm 4.2\%$  (Hulatt et al., 2014).

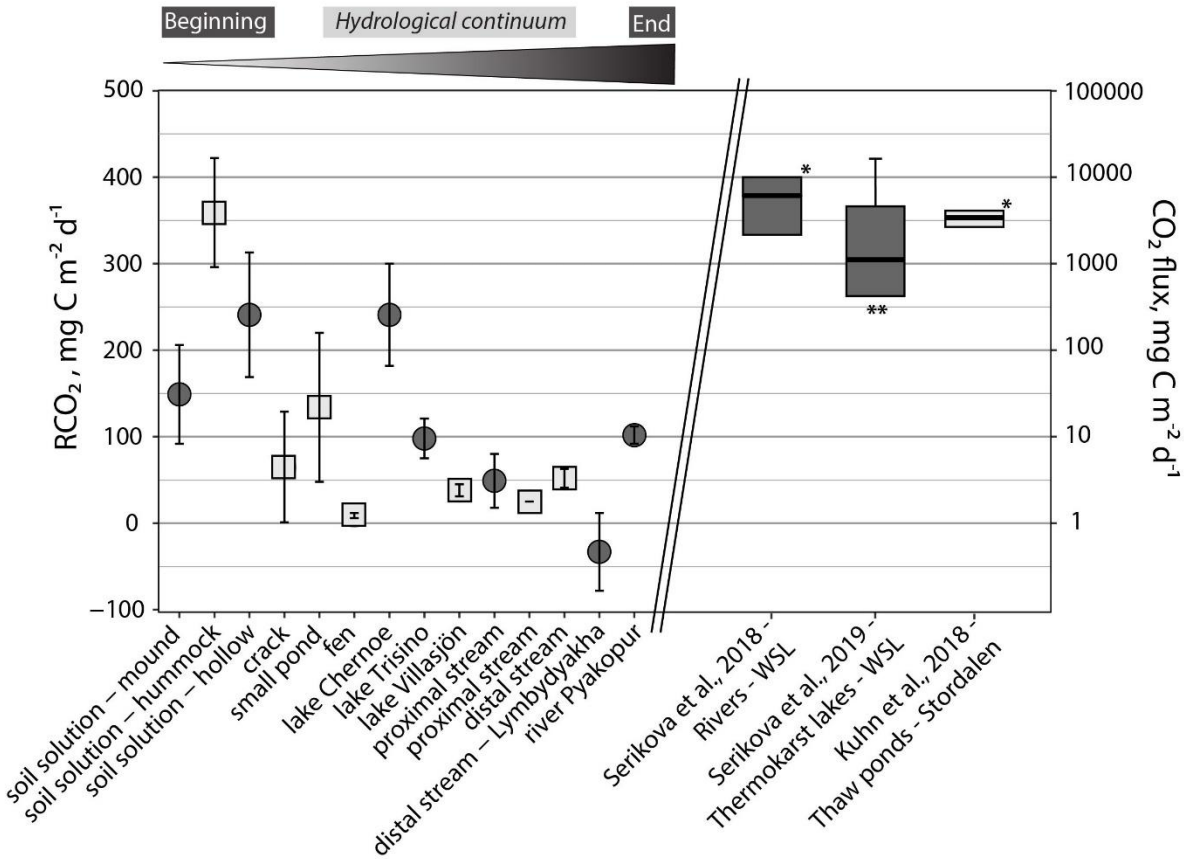
### **3.7.4 How does CO<sub>2</sub> production from experimental DOC biodegradation relate to field-based fluxes estimates**

The findings of this study and widely reported dominance of low-biodegradable DOC (0-15% BDOC) in large rivers and streams of the discontinuous permafrost zone (Frey et al., 2016; Vonk et al., 2015a) suggest that 1) the majority of DOC is degraded before its arrival to large aquatic reservoirs (Striegl et al., 2005), and 2) the CO<sub>2</sub> supersaturation and emission of surface waters of frozen peatlands can be largely a result of soil, soil pore water and sediment respiration rather than an aerobic bio- and photo-degradation of DOM in the water column (Audry et al., 2011; Deshpande et al., 2017; Rocher-Ros et al., 2020; Shirokova et al., 2019a).

In order to quantify the potential importance of biodegradation of DOC to the atmospheric CO<sub>2</sub> fluxes from the study systems, we assumed that the entire consumed DOC was converted into CO<sub>2</sub>. This assumption allows to determine the maximal CO<sub>2</sub> emission possible due to the biodegradation, keeping in mind that the true value is likely lower. Thus, to assess the amount of CO<sub>2</sub>, potentially emitted due to the total mineralization of OC *via* biodegradation (RCO<sub>2</sub>) in each water body, we multiplied RDOC<sub>15</sub> (Table S5) by the mean depth of the water columns (Table S1). This calculation assumes 1) negligible uptake of C for bacterial biomass growth, 2) constant biodegradation intensity over the full depth of the water column, and that 3) the entire DOC pool is available for degradation. The obtained RCO<sub>2</sub> values decreased for both HC from headwaters to streams and rivers of both Khanymey (range:  $-33 \pm 45$  to  $241 \pm 72$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) and the Stordalen ( $9 \pm 3$  to  $359 \pm 63$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>) HC (**Figure 3 - 5**). The median ( $\pm$  IQR) RCO<sub>2</sub> values of thaw ponds and lakes of the Khanymey site ( $169 \pm 72$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, data not shown) are sizably lower than the median CO<sub>2</sub> emissions from the western Siberia lowland (WSL) thermokarst lakes measured by floating chambers ( $1,101 \pm 4,150$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, [Serikova et al. \(2019\)](#)). The RCO<sub>2</sub> of the Khanymey streams and river ( $49 \pm 68$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, data not shown) are also much lower than the median values of CO<sub>2</sub> emissions from the WSL rivers ( $6,000 \pm 3,900$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, [Serikova et al. \(2018\)](#)). Similarly, the median RCO<sub>2</sub> of pond, fen and lake of the Stordalen site ( $38 \pm 62$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, data not shown) are much lower than the median CO<sub>2</sub> emissions from small (4-150 m<sup>2</sup>) thaw ponds of this mire ( $3,348 \pm 1,392$  mg C-CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, [Kuhn et al. \(2018\)](#)). This comparison clearly demonstrates that the potential contribution of DOC biodegradation to the field-measured CO<sub>2</sub> emissions from inland waters of permafrost peatlands is typically below 10 % (**Figure 3 - 5**).

Therefore, the DOC biodegradation rates obtained in this study for the water column appear to be insufficient to support the observed CO<sub>2</sub> emissions from the water surface to the atmosphere. Several factors can contribute to this disparity. First, aerobic and anaerobic respiration of stream, lake and river sediments as well as soil water input *via* supra-permafrost flow (i.e., [Raudina et al., 2018](#)), that can produce a sizeable amount of CO<sub>2</sub>, thus increasing overall C emission potential of the aquatic systems ([MacIntyre et al., 2018](#); [Valle et al., 2018](#)). For example, anaerobic C mineralization of thermokarst lake sediments is fairly well established in discontinuous permafrost zone of peat bogs in western Siberia ([Audry et al., 2011](#)) and Canada ([Deshpande et al., 2017](#)). Second, the photo-degradation ([Panneer Selvam](#)

et al., 2019) of OM as well as the photo-stimulation of the microbial respiration, which is known to decrease along the HC (Cory and Kling, 2018), could enhance natural CO<sub>2</sub> emission compared to laboratory incubations. Third, the POC present in the water column in the field can sizably contribute to overall CO<sub>2</sub> emissions from surface waters: it has been shown that, during laboratory incubations of boreal and subarctic waters, the POC is 15 times more reactive towards biodegradation than DOC (Attermeyer et al., 2018).



**Figure 3 - 5 :** Left axis: Calculated potential CO<sub>2</sub> fluxes (mean ± SD) emitted by biodegradation (RCO<sub>2</sub>) of waters from the Khanymey (black circles) and Stordalen (grey squares) hydrological continuum. Right axis: CO<sub>2</sub> emissions (mg C m<sup>-2</sup> d<sup>-1</sup>, log scale) field-based estimated from other studies in Khanymey region (dark grey boxplot) for rivers (Serikova et al., 2018) and thermokarst lakes (Serikova et al., 2019) ; and in thaw ponds from the Stordalen region (light grey boxplot, Kuhn et al. (2018)). The box encloses 50% of the data and the horizontal bar marks the median. Whiskers extend to the outermost data-points. \* No outermost data-points are given for those studies. \*\* Negative values for the minimum outermost data-point

Our study dealt solely with dissolved components in closed systems and was conducted in the ice-free season of arctic peatlands. Although the results of both incubations are comparable between sites, which were sampled during the baseflow summer-autumn period, additional factors need to be considered in order to fully understand the biogeochemical processing of organic carbon in natural systems. These include i) seasonality (Gao et al., 2019;



Kaiser et al., 2017; Li et al., 2019), notably spring snowmelt period (Tang et al., 2018) and potential anoxic conditions in summer and winter (Deshpande et al., 2017), ii) water retention time (Moore, 2009; Olefeldt and Roulet, 2012; Tang et al., 2018), iii) vegetation cover which affects quality and quantity of OM input (Gałka et al., 2017; Kaiser et al., 2017); iv) the ratio of water volume to soil/sediment surface area which determines the rate of fresh OM input (Polishchuk et al., 2017), v) the biodegradability of the particulate organic carbon (Attermeyer et al., 2018), and vi) redox conditions in the water column (Deshpande et al., 2017) and at the water-sediment interface (Valle et al., 2018).

## 3.8 Conclusions

Biodegradation experiments demonstrated a decreasing trend of DOC removal rate along the HC from soil solutions to lakes, streams, and rivers of the discontinuous permafrost zone of permafrost peatlands of W. Siberia and N. Sweden. While we hypothesized a decrease of the DOC biodegradability along the HC, the BDOC increased from the beginning to the end of the continuum. This could be linked to preferential removal of labile, low molecular weight components of the DOM which are likely to be firstly processed during the transition because the fresher DOC is delivered into the early stages of the HC. Low DOM biodegradability reported in this study (0 and 20%) suggests that the majority of BDOC is degraded before its arrival to a larger aquatic reservoir or even before reaching surface waters. We also suggest that the biodegradation can support part of the CO<sub>2</sub> emissions from surface waters of these peatlands but that other sources are likely of larger importance, including soil and sediment respiration of dissolved and particulate OC, photo-degradation and photo-stimulation of the microbial respiration. Concurrent measurements of BDOC and direct CO<sub>2</sub> emissions in the field are needed to constrain the quantitative importance of *in-situ* DOM degradation for CO<sub>2</sub> fluxes to the atmosphere. Considering the fast processing of OM at the beginning of the continuum and the increasing biodegradability of waters along the HC, this study highlights the importance of accounting for the large spatial heterogeneity of aquatic environments which is needed for mechanistically modeling of C cycling in permafrost peatlands.

# ***3.9 Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse***

- Dans la partie « 3.5.3 – Analyses » :

Le pH des échantillons provenant du site Suédois et destinés à l'analyse de fluorescence, a été ajusté à 2 en suivant le protocole utilisé par [Roehm et al. \(2009\)](#) sur des eaux provenant du même site. Cet ajustement du pH, questionné par un des rapporteurs, est décrit par [McKnight et al. \(2001\)](#) comme permettant de minimiser les erreurs de mesures dues à la complexation des métaux.

La concentration en cellules bactériennes (TBC) est obtenue après fixation de l'échantillon à l'aide de glutaraldéhyde à 25%. Celle-ci s'effectue en ajoutant 1 goutte de glutaraldéhyde dans 5 à 6 mL d'échantillons immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Ce dernier est ensuite stocké au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à l'analyse.

- Dans la partie « 3.6.2 – Biodégradation of DOC » :

Les rapporteurs indiquent que le TBC des échantillons du site Suédois, compris entre  $2.26 \times 10^3$  et  $3.76 \times 10^4$  cellules.mL<sup>-1</sup> est anormalement bas au vue des valeurs des lacs oligotrophiques obtenues au cours de leurs études (minimum  $10^5$  cellules.mL<sup>-1</sup>). Cela peut être dû à une technique de fixation et de conservation différente de celle utilisée durant cette thèse (technique décrite dans le paragraphe ci-dessus). Dans leurs études ([Laurion et al., 2020](#); [Laurion and Mladenov, 2013](#)), les rapporteurs fixent les échantillons destinés à la cytométrie en flux à l'aide d'une solution filtrée de paraformaldéhyde (1% de la concentration finale) et de glutaraldéhyde (0,1% de la concentration finale) à laquelle ils ajoutent un inhibiteur de protéase (le fluorure de phénylméthylsulfonyl dont la concentration finale est de 1 µmol.L<sup>-1</sup>). Leurs échantillons sont ensuite stockés à -20 °C sur le terrain et -80 °C en laboratoire. Par ailleurs, l'ajout de l'inhibiteur de protéase ainsi que le stockage à plus faible température peut permettre une meilleure conservation des cellules microbiennes. Ceci pourrait expliquer une

décomposition partielle des cellules microbiennes de nos échantillons et donc une concentration plus faible des cellules microbiennes mesurées dans cette étude.

- **Dans la partie « 3.7.1 – Evolution of the DOC removal rate and biodegradability along the hydrological continuum » :**

À la phrase « Indeed, when the residence time of water is short, the decay rate of OC is believed to be governed by photodegradation and flocculation of OC » les rapporteurs indiquent que la relation pourrait être inversée; c'est-à-dire qu'un temps de résidence long et non court favoriserait la photodégradation et la floculation du carbone organique.

La phrase écrite telle quelle dans l'article peut possiblement porter à confusion. Ce que nous souhaitons souligner c'est la dominance des processus rapides de photodégradation du COD dans les eaux à faible temps de résidence en opposition aux processus plus lents de biodégradation et de production du COD qui dominent les eaux ayant un temps de résidence élevé comme indiqué par [Evans et al. \(2017\)](#).

- **Dans la partie « 3.7.3 – Comparison between the hydrological continuum of Khanymey and Stordalen » :**

- À la phrase « Thus, given the higher values of BDOC<sub>15</sub> and the lower values of TBC in Stordalen compared with Khanymey, we hypothesize that the biodiversity of microorganisms in the experiment, rather than the microbial number (TBC) impact the final BDOC of waters. » les rapporteurs indiquent que la différence entre les deux sites pourrait être due à une différence de nature de la MO plutôt qu'à la biodiversité des microorganismes.

Effectivement la différence entre les deux sites étudiés peut provenir de la conjonction de ces deux causes potentielles : la biodiversité des microorganismes et la nature de la MO.

- Au paragraphe : « It has been shown that the microbial community drastically and rapidly changes between summer and winter period with a syntrophic winter community having a higher potential for mobilizing and converting complex organic matter to more labile C sources ([Vigneron et al., 2019](#)). Consistent with this observation, our results show a smaller increase in the SUVA<sub>254</sub> (reflecting the presence of aromatic components, [Hood et al., 2005](#); [Neff et al., 2006](#)) during incubation of waters from Stordalen (12 to 22% increase) compared to Khanymey (14 to 58% increase) (**Figure 3 - 2 C**) » les rapporteurs indiquent que le lien entre les variations de SUVA<sub>254</sub> et les changements de saisons n'est pas clair.

Les échantillons provenant de Stordalen ont été collectés en Octobre 2018 (fin de l'automne) alors que ceux de Khanymey ont été collectés en juillet 2018 (été). Le  $SUVA_{254}$  dans les incubations des échantillons de Stordalen augmente faiblement durant l'incubation (12 à 22%). À l'inverse dans les incubations de Khanymey le  $SUVA_{254}$  augmente plus fortement (14 à 58%). Cette différence indique une plus faible accumulation relative des composés aromatiques (par la consommation des composés aliphatiques plus facilement biodégradables) dans les échantillons de Stordalen. Ainsi la dégradation plus efficace des composés aromatiques par la communauté microbienne des échantillons de Stordalen observée dans cette étude est en accord avec la présence d'une communauté microbienne hivernale à fort potentiel de dégradation de la MO complexe, comme soulignée par [Vigneron et al. \(2019\)](#).

# ***Chapitre 4***

## ***Impact of freeze-thaw cycles on organic carbon and metals in waters of permafrost peatlands***

***Authors:*** Payandi-Rolland, D., Shirokova, L.S., Labonne, F., Bénézech, P., Pokrovsky, O.S.

***Submitted at:*** Chemosphere – October 2020

***Data set:*** available with the DOI: 10.17632/656F9SKXP4.1

### ***CRedit authorship contribution statement:***

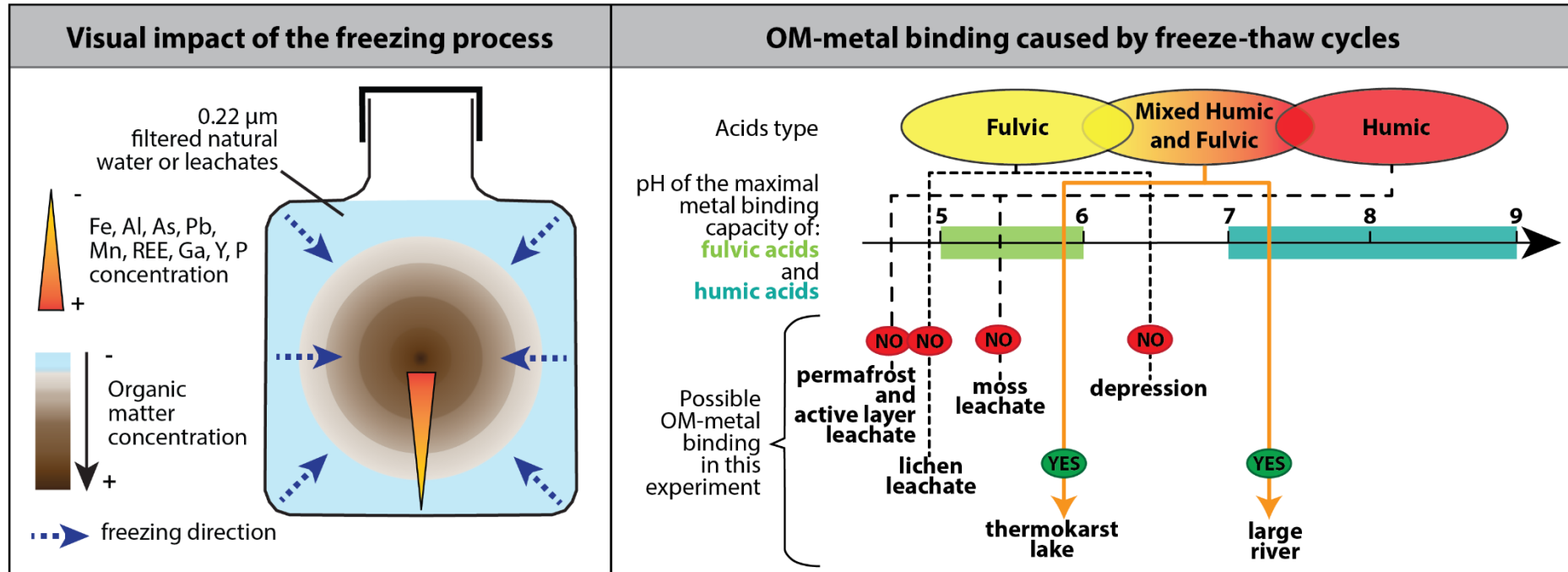
***D. Payandi-Rolland:*** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.

***L.S. Shirokova:*** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.

***F. Labonne:*** Investigation. ***P. Bénézech:*** Writing – original draft

***O.S. Pokrovsky:*** Conceptualization, Writing - original draft

# 4.1 Résumé graphique / Graphical abstract



## ***4.2 Aperçu en français de l'article***

### ***4.2.1 Résumé***

Malgré l'importance des processus de gel des sols et des eaux de surfaces dans les zones à pergélisol, le comportement du carbone organique dissous (COD), des nutriments et des métaux durant la formation de la glace dans un contexte d'eau douce continental reste très peu étudié. Le changement climatique actuel peut augmenter la fréquence des cycles de gel-dégel (CGD) qui peuvent fortement modifier la composition chimique des eaux des tourbières à pergélisol. Nous avons mené des expériences en laboratoire durant lesquelles 9 cycles répétés de gel (1 nuit à -20 °C) et de dégel (5 heures à 4 °C) ont été appliqués à des solutions aqueuses filtrées (0,22 µm) provenant d'une tourbière à pergélisol discontinu du Nord-Est de l'Europe : des lixiviats de végétation (lichen et mousse) et de sol (tourbe de la couche active et du pergélisol), ainsi que des eaux de surfaces naturelles collectées dans une dépression, un lac thermokarstique et un fleuve (Pechora, Russie). Après 9 CGD, des variations mineures (< 5-15 %) des concentrations en COD, de l'absorbance UV spécifique (SUVA<sub>254</sub>) et du poids moléculaire moyen (WAMW) ont été observées pour les lixiviats et l'eau de la dépression. Plusieurs concentrations en éléments traces (Fe, Al, P, Mn, As et REE) varient significativement (> 10 %) dans toutes les solutions. Les lixiviats de la végétation et des sols, ainsi que l'eau de la dépression s'enrichissent en ET avec les CGD. À l'inverse, le lac thermokarstique et le fleuve Pechora montrent une diminution des concentrations en Fe (respectivement -39 et -94%), Al (-9 et -85%) et Mn (-10 et -79%) durant les CGD. Ces observations peuvent être expliquées par l'agrégation de matière organique (MO) aliphatique de faible poids moléculaire et la précipitation d'oxy-hydroxydes de Fe et d'Al ainsi que de particules organo-minérales. Nos résultats démontrent que les CGD peuvent favoriser la libération d'ET (particulièrement de métaux et d'éléments toxiques pour l'environnement) à partir des eaux acides et riches en MO, et au contraire favoriser le maintien des colloïdes organo-minéraux dans les grands lacs et les fleuves ce qui facilite le transport aquatique du COD et des métaux des sols vers l'océan Arctique.

### **4.2.2 Conclusion**

Cette étude démontre que la composition de la MO (aromaticité, poids moléculaire, proportion des composés humiques et fulviques) et le pH des eaux sont les facteurs principaux qui contrôlent le comportement du COD ( $< 0.22 \mu\text{m}$ ) durant les CGD. Aucune relation quantitative n'a pu être établie entre le nombre de CGD et la quantité ainsi que la qualité du COD dans les lixiviats acides et riches en MO provenant de la végétation terrestre et des 2 types de tourbes. Nous avons observé une forte stabilité des complexes organo-métalliques face aux cycles de gel et de dégel dans les eaux de surface et du sol, typiques des tourbières à pergélisol. À l'inverse, les eaux à pH neutre et riches en acides humiques et fulviques provenant du lac thermokarstique et du fleuve Pechora sont susceptibles de présenter des formations de particules organo-minérales riches en Fe et Al. Si le COD reste stable durant les CGD, les variations des concentrations en ET sont en revanche très prononcées et souvent supérieures à 10%. Ainsi, dans l'eau du fleuve Pechora, les concentrations en macro- / micro-nutriments et en hydrolysats trivalents et tétravalents ( $\text{ET}^{3+}$  et  $\text{ET}^{4+}$ ), diminuent avec les CGD. Ce phénomène a aussi été observé dans l'eau du lac thermokarstique. Ainsi, les cycles de gel et de dégel favorisent le transport des colloïdes organo-minéraux issus des grands lacs thermokarstiques, transitant par les rivières jusqu'à l'Océan Arctique. L'augmentation de ces cycles due au réchauffement climatique dans les régions de hautes latitudes pourrait accentuer ce transport.



## 4.3 Abstract

Despite the importance of soil and surface waters freezing in permafrost landscapes, the behaviour of dissolved organic carbon (DOC), nutrients and metals during periodic ice formation and melting processes remains poorly known. The on-going climate warming is likely to increase the frequency of freeze-thaw cycles (FTC) in continental aquatic settings, which could strongly modify the chemical composition of permafrost peatlands waters. In this study, we conducted 9 repetitive cycles of overnight freezing (-20 °C) and 5 hour thawing (4°C) in the laboratory using representative 0.22 µm-filtered waters from NE European permafrost peatland: leachates of vegetation (lichen and moss) and soil (active layer and permafrost peat), as well as natural surface waters (a depression, a thermokarst lake and a large river named Pechora). After nine FTC, only minor (< 5% - 15%) changes of DOC concentrations, SUVA<sub>254</sub> and molecular weight were observed in all leachates and the depression water. In contrast, several trace elements (Fe, Al, P, Mn, As, and REE) exhibited sizable variations during FTC (> 10%). The leachates and the depression water were mainly enriched in trace elements, whereas the thermokarst lake and the Pechora River demonstrated a decrease in concentration of Fe (-39 and -94 %, respectively), Al (-9 and -85 %), and Mn (-10 and -79 %) during FTC. Overall, the observations demonstrated an increase in aliphatic low molecular weight organic matter (OM), and the precipitation of Fe, Al hydroxides and organo-mineral particles during FTC. Therefore, enhanced frequency of FTC can favour the release of metals and toxicants from acidic OM-rich surface waters and maintain stable OM-metals-colloids in large lakes and rivers, thus regulating aquatic transport of DOC and metals from soils to the Arctic Ocean.

## 4.4 Introduction

In Arctic regions, strong permafrost thaw occurs mostly where soil temperature fluctuates around 0 °C (Romanovsky et al., 2010) which corresponds to discontinuous and sporadic permafrost zones. This is especially important in Arctic wetlands such as permafrost peatlands which contain a huge amount of organic carbon (OC) (Hugelius et al., 2014; Schuur et al., 2015). The dissolved OC (DOC) is the main form of terrestrial C exported from soil solutions to rivers and lakes in the wetlands (Chapin et al., 2006; Cole et al., 2007). The transformation of DOC in surface waters involves photo- and bio-degradation which is controlled by light intensity (Selvam et al., 2019), temperature (Boddy et al., 2008), origin of OC and microbial diversity (Young et al., 2005). Transition periods (*i.e.* early spring and late autumn) appeared to be essential times for the export (Manasypov et al., 2015; Pokrovsky et al., 2020) and biodegradation (Payandi-Rolland et al., 2020a) of DOC in rivers and lakes of Arctic wetlands when the majority of DOC originates from leaching of supra-permafrost-soil and vegetation (Ma et al., 2019; Vonk et al., 2015b). These periods are dominated by recurrent freeze-thaw cycles (FTC, Henry, 2008). Furthermore, full freezing of thermokarst lake basins in western Siberia was reported to lead to massive coagulation of organo-ferric colloids producing macroscopic, organic- and Fe-rich amorphous particles capable of precipitating to the lake bottom (Manasypov et al., 2015).

Since the 1970s, a lot of attention is given to the impact of freezing and thawing on soil properties (DeLuca et al., 1992; Kim et al., 2017; Larsen et al., 2002; Ren and Vanapalli, 2020; Schimel and Clein, 1996; Xiao et al., 2019). In contrast, studies on the influence of freezing and thawing on dissolved solutes of continental waters are only at their beginning (Chen et al., 2016; Hentschel et al., 2008; Pokrovsky et al., 2018; Savenko et al., 2020; Spencer et al., 2007a). Most of them focused on surface water with near circum-neutral pH such as rivers (Chen et al., 2016; Savenko et al., 2020) and ponds (Pokrovsky et al., 2018). The main impact noticed by those studies is the decrease of aromaticity in waters due to FTC (Chen et al., 2016) and the generation of low molecular weight (LMW) organic components (Pokrovsky et al., 2018). The impact of freezing on dissolved organic matter (DOM) in high latitudes is still poorly known. In this study, we conducted freeze-thaw experiments aimed to characterize the impact of FTC on DOC, major and trace elements in waters of one of the largest permafrost peatlands

of Europe, the Bolshezemelskaya Tundra (BZT). For this, we used DOM originated from vegetation, soil (peat) and natural water bodies of this peatland. Based on a few available studies dealing with FTC of surface waters ([Fellman et al., 2008](#); [Pokrovsky et al., 2018](#); [Xue et al., 2015](#)), we hypothesized that: 1) DOC and trace metals (TM) present in the form of organic and organo-mineral colloids could coagulate under freezing which could favour the transport of mineral under more stable forms (colloids) through lakes and rivers to the Arctic Ocean; 2) OC originated from fresh plant biomass (i.e. leachates not subjected to previous freezing) would be more sensitive to FTC compared to natural waters, as fresh DOC is known to be composed of more labile components, and 3) the FTC could have a more pronounced effect on the degradation of OC from the permafrost compared with active layer OC since the latter has undergone previous seasonal freezing cycles. Overall, we aimed at providing an empirical assessment on the degree of DOC and inorganic solutes concentrations change after repeating freezing and thawing of representative surface waters from permafrost peatlands.

## 4.5 Materials and methods

### 4.5.1 Substrates origins and use

The DOM used in this study originated from: *i*) natural surface waters of a permafrost peatland, *ii*) aqueous leachates of ground vegetation and *iii*) aqueous leachates of peat soil. The sampling sites are located in the NE European permafrost peatlands (BZT) within the discontinuous permafrost zone. Natural waters were collected from a small depression, a thermokarst lake and the Pechora River (Supplementary **Tableau 4 - S 1**). Waters were filtered on-site through a 0.45 µm sterile filtration unit and re-filtered in the laboratory through a 0.22 µm Nalgene sterile filter before freezing.

The soil and ground vegetation for leachates were collected at the shore of the thermokarst lake (**Tableau 4 - S 1** and **Figure 4 - S 1**). The peat core was sampled using a Russian peat corer (see details of sampling and handling in [Morgalev et al. \(2017\)](#)). The soils included two subsamples of peat, one collected in the active (unfrozen) layer (20-30 cm below the surface) and the second one in the permafrost zone (> 30-40 cm). Both subsamples represented oligotrophic peat composed of *Sphagnum angustifolium*, cotton-grass *Eriophorum*, *Scheuchzeria palustris*, bog-sedge *Carex limosa*, lichens, dwarf shrubs and some

amount of wood debris (pine) and green mosses (Payandi-Rolland et al., 2020a). Note that *Sphagnum* is representative of boreal peatland ecosystems (Turetsky et al., 2008). Ground vegetation comprised *Sphagnum* (*Sphagnum fuscum* and *Sphagnum augustifolium*) and lichens (*Cladonia* genus), which colonize hollows and mounds of the palsa and are reported to be widely spread species in the tundra (Malmer et al., 2005). Aqueous leachates were prepared by reacting 10 g of solid OM (10 g<sub>wet</sub> for frozen peat and 10 g<sub>dry</sub> for vegetation) with 1 L of sterile MilliQ water under constant agitation (70 rpm) at 25 ± 2 °C in the dark and aerobic conditions (Payandi-Rolland et al., 2020a; Shirokova et al., 2017a, 2017b). After 3 days of reactions, aqueous suspension of OM was centrifuged at 4500 g for 5 minutes and then sterile filtered (< 0.22 µm) using 500 mL Nalgene units and a manual vacuum pump.

#### **4.5.2 Incubation, freeze-thaw cycles and sampling**

A 150 mL aliquot of each leachate and natural waters were placed in pre-cleaned (rinsed 3 times with HCl (1 M) and MQ water and then autoclaved (121 °C for 20 min)) 200 mL polypropylene Nalgene bottles. Experiments with each substrate were performed in duplicate. A cycle of freeze-thaw (adapted from Pokrovsky et al., 2018) started from placing water-filled Nalgene bottles in the freezer (-20 °C) overnight. After the total freeze of the liquid, bottles were transferred into the refrigerator compartment (at 4 °C) and kept there for 5 hours until the ice melted completely. These temperatures *i*) can be observed at the permafrost peatlands during the year in winter (Lim et al., 2021), early spring and late autumn (“Climate & Weather Averages in Naryan-Mar, Russia,” 2015; Serikova et al., 2019) and *ii*) are consistent with the range used in previous works on this subject (Chen et al., 2016; Pokrovsky et al., 2018; Spencer et al., 2007a; Xue et al., 2015). All filtrates have undergone 9 FTC, which corresponds to the average number of annual freeze-thaw cycles observed in high-latitude boreal and Arctic regions (Henry, 2008; Pokrovsky et al., 2018).

After total ice melt in each cycle, we sampled 15 mL of a homogeneous aliquot from the bottle. Before and during the sampling, bottles were vigorously stirred with a magnetic stir bar to provide homogeneous suspension and avoid selective removal of either dissolved or particulate phase. A non-filtered subsample was used to measure pH (uncertainty of ± 0.01 pH units) and specific conductivity (± 0.1 µS.cm<sup>-1</sup>). The rest of the 15 mL was filtered through a 0.22 µm filter (sterilizing filtration, Minisart® syringe filter). In the filtrates, the DOC was measured with Shimadzu TOC-VSCN with an uncertainty of 2%. The UV-absorbance of water

samples was measured using a 10 mm quartz cuvette on a CARY-50 UV-vis spectrophotometer, between 200 and 700 nm. The UV and visible spectra allowed assessment of (i) the molecular weight (MW) of DOC *via* the Weight-Average Molecular Weight index (WAMW, using the absorbance at 280 nm, [Chin et al., 1994](#)), (ii) the humification index using the ratio of absorbance at 250 and 400 nm (the E2:E4 ratio, [Park et al., 1999](#)) and (iii) the aromaticity of incubated water *via* specific UV absorbance (SUVA<sub>254</sub>) ([Abbt-Braun and Frimmel, 1999](#)). Major cations (Na, Ca, K and Mg), Si, P and trace elements (TE) were measured with a quadrupole ICP-MS (Agilent 7500 ce) using In+Re as an internal standard. The international geo-standard SLRS-5 (Riverine Water Reference Material for Trace Metals) was used to check the validity and reproducibility of analyses.

### **4.5.3 Treatment of experimental results**

Statistical treatment involved the least square method for regression and the Pearson correlation. All statistical analysis has been realized under R-software (version 3.6.2). Boxplot analyses were used to detect outliers. Boxplot values combine the median (Q<sub>2</sub>), the first quartile (Q<sub>1</sub>), the third quartile (Q<sub>3</sub>), and the interquartile range (IQR) which is defined as the difference between Q<sub>3</sub> and Q<sub>1</sub>. Outliers are defined as values located outside the first (D<sub>1</sub>) and the last (D<sub>9</sub>) decile, as “D<sub>1</sub> = Q<sub>1</sub> - 1.5\*IQR” and “D<sub>9</sub> = Q<sub>3</sub> + 1.5\*IQR” ([Tukey, 1977](#)). Linear regression analyses have been performed using the function “lm” of the package “stats”. The percentage of component gain or loss during FTC ( $\Delta\text{FTC}_{0-9}$ , %) was calculated as a difference in concentration between the final and initial concentration of a component, normalized to its initial concentration. Trace element complexation with OM and saturation indices of the solution with respect to common solid phases were calculated using the Visual MINTEQ (vMINTEQ) software, following the model specifications for organic-rich waters of permafrost peatlands describe elsewhere ([Pokrovsky et al., 2018, 2016](#)).

## **4.6 Results and Discussion**

### **4.6.1 Chemical composition of aquatic substrates**

The dissolved (<0.22  $\mu\text{m}$ ) concentrations of DOC, major and trace elements of substrates used in this study are reported in **Tableau 4 - 1**. The water samples ranged from acidic (peat

and vegetation leachates) to circum-neutral (depression, thermokarst lake, and Pechora River). The DOC of the thermokarst lake and the river was  $< 10 \text{ mg L}^{-1}$ , which was 2 times lower than the leachates of peat and moss, 5 times lower than the lichen leachate, and 10 times lower than the water of depression. Such a wide range is comparable to the ones reported for the hydrological continuum (depression  $\rightarrow$  lake  $\rightarrow$  stream  $\rightarrow$  river) of this region (Shirokova et al., 2019). In all substrates, the DIC was below  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  except for the Pechora River ( $10.4 \text{ mg L}^{-1}$ ). The SUVA<sub>254</sub> ranged from low ( $< 2 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$ ) for the lichen leachate and the depression to near  $4 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$  in other natural waters, and finally to values  $> 5 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$  for leachates of soils and moss. The WAMW of all substrates was lower than 3 kDa and ranged from  $\leq 1 \text{ kDa}$  in lichen leachate and the depression to near 2-2.5 kDa in other natural waters and in soil and moss leachates. Considering that MW in rivers, of fulvic acids (Fa) is approximately 600 to 1000 Da and that the humic acid (Ha) MW is between 1500-5000 Da (Garcia-Mina, 2006; Malcolm, 1990), 3 groups of samples could be distinguished in terms of DOM character: *i*) the humic OM group with a strong influence of Ha (*i.e.* leachates of soils and moss), *ii*) the “mixed” OM group with both influence of humic and fulvic acids (HFa) (*i.e.* the thermokarst lake and the Pechora River) and *iii*) the Fa OM group (*i.e.* lichen leachate and the water from the depression).

The leachate of lichen and the water from depression exhibited the higher DOC concentration (respectively 53 and  $107 \text{ mg L}^{-1}$ ), lower WAMW ( $758 \pm 1$  and  $1121 \pm 7 \text{ Da}$ ) and lower SUVA<sub>254</sub> ( $0.7$  and  $1.6 \text{ L mgC}^{-1} \text{ m}^{-1}$ ). This indicates that the DOC of these samples is mostly composed of simple OC molecules with the dominance of aliphatic components (Ågren et al., 2008; Tranvik and Jørgensen, 1995; Weishaar et al., 2003). Conversely, other waters exhibited lower DOC concentrations with a high proportion of aromatic compounds (Tableau 4 - 1). Considering the observed large difference in concentration of DOC, aromatic/aliphatic composition and the molecular weight of waters, it is anticipated that the effect of FTC could be primarily linked to these parameters. The concentrations of major and trace elements strongly varied among samples with general dominance of alkali and alkaline earth metals such as Ca, Na, Mg and K (Tableau 4 - 1). The highest concentrations of metals (Fe, Al, Mn) were observed in the moss leachate and depression waters (Tableau 4 - 1). Other elements had concentrations lower than  $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .

#### **4.6.2 Visual impact of the freezing process on DOM and removal of outliers**

After full freezing of experimental reactors, ice was transparent at the borders and brown in the center of bottles, similar to other FTC experiments (e.g., [Pokrovsky et al., 2018](#)). The concentration of brownish components (chromophoric components) in the center of the bottle reflects the progressive freezing of water from bottle edges to the center with a relative accumulation of DOM in the remaining liquid ([Petzold et al., 2013](#); [Shafique et al., 2012](#); [Xue et al., 2015](#); [Zaritzky, 2006](#)). Further, it was shown that a high concentration of DOM and low freezing temperatures diminish the proportion of DOM incorporated in the ice phase ([Elliott and Henry, 2009](#); [Hentschel et al., 2008](#); [Shafique et al., 2012](#); [Xue et al., 2015](#)). The high concentration of DOC in leachates of soils and moss (around 20 mg L<sup>-1</sup>), in the leachate of lichen (53 mg L<sup>-1</sup>) and water from the depression (106 mg L<sup>-1</sup>) associated to the -20 °C temperature used in this study promotes the segregation of DOM in remaining water located at the center of the bottle during the freezing process. Such a formation of brown coagulates in the ice was interpreted as a change in particles density and diameter that occurs during the freezing ([Fellman et al., 2008](#); [Giesy and Briese, 1978](#)), presumably, due to the formation of organo-metal aggregates rich in Fe and Al hydroxides (see *sous-section 4.5.5*).

It is worth noting that after the total thaw of waters no visual aggregations of OM (brownish area) can be distinguished in liquid. Furthermore, conversely to the FTC experiments on an organic-rich bog and fen waters ([Pokrovsky et al., 2018](#)), no brown/yellow precipitates have been observed at the bottom of the containers. From this observation, we hypothesize apparent reversibility of organic colloids and particles aggregation-dissolution during FTC of studied waters.

**Tableau 4 - 1 :** General physical and chemical dissolved (<0.22 μm) parameters of different aquatic substrates before the first freezing (replicate mean ±standard deviation).

	Abbreviation, units	Leachates				Natural waters		
		Frozen peat		Vegetation		depression	thermokarst lake	Pechora River
		active layer	permafrost	lichen	moss			
Acidity	pH, E	4.3 ±0.2	4.6 ±0.1	4.6 ±0.2	5.5 ±0.2	6.4 ±0.2	6.3 ±0.0	7.0 ±0.1
	Conductivity, μS cm <sup>-1</sup>	21 ±7	17 ±0	28 ±1	25 ±2	141 ±2	18 ±1	77 ±3
Carbon	DOC, mg L <sup>-1</sup>	22.5 ±0.1	22.7 ±0.3	52.6 ±0.2	22.6 ±0.2	106.5 ±0.6	9.4 ±0.1	7.6 ±0.1
	DIC, mg L <sup>-1</sup>	0.63 ±0.00	0.63 ± 0.01	0.66 ±0.01	0.89 ±0.01	0.80 ±0.01	1.40 ±0.03	10.36 ±0.06
	SUVA <sub>254</sub> , L mgC <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup>	5.3 ±0.0	5.2 ±0.0	0.7 ±0.0	5.2 ±0.1	1.6 ±0.0	4.5 ±0.0	4.0 ±0.1
	E2:E3 ratio	3.5 ±0.0	3.5 ±0.0	3.8 ±0.0	3.9 ±0.0	4.7 ±0.0	3.7 ±0.0	3.5 ±0.0
	E2:E4 ratio	13.4 ±0.1	13.5 ±0.1	11.3 ±0.0	13.5 ±0.0	17.9 ±0.0	10.6 ±0.3	9.5 ±0.0
	E4:E6 ratio	7.0 ±0.1	7.2 ±0.2	3.6 ±0.1	5.5 ±0.1	5.2 ±0.2	4.6 ±0.2	4.0 ±0.0
	WAMW, Da	2525 ±12	2489 ±8	758 ±1	2429 ±25	1121 ±7	2167 ±14	1999 ±22
Alkali metals	Na, μg L <sup>-1</sup>	105.95 ±6.9	156.40 ±5.6	701.25 ±4.3	1171.50 ±23.5	6787.50 ±134.5	682.05 ±24.5	1955.5 ±54.5
	K, μg L <sup>-1</sup>	48.93 ±3.6	54.21 ±5.4	2658.00 ±24.0	223.05 ±3.8	14830.00 ±330	159.30 ±4.5	196.15 ±5.9
	Rb, μg L <sup>-1</sup>	0.20 ±0.0	0.27 ±0.0	5.08 ±0.1	0.13 ±0.0	28.30 ±0.4	0.19 ±0.0	0.21 ±0.0
Alkaline-earth metals	Mg, μg L <sup>-1</sup>	50.24 ±3.5	65.80 ±1.5	8.12 ±0.6	439.75 ±8.9	127.90 ±1.4	342.35 ±11.2	1521.5 ±42.5
	Ca, μg L <sup>-1</sup>	295.60 ±21.9	418.90 ±16.2	29.88 ±3.0	922.40 ±20.1	163.25 ±17.3	887.50 ±27.8	7097.00 ±170.0
	Sr, μg L <sup>-1</sup>	1.37 ±0.1	1.87 ±0.1	0.08 ±0.0	5.59 ±0.1	0.74 ±0.0	3.69 ±0.1	32.17 ±0.0
	Ba, μg L <sup>-1</sup>	0.36 ±0.0	0.37 ±0.0	0.13 ±0.0	2.70 ±0.1	0.46 ±0.0	2.06 ±0.1	3.37 ±0.0



**Tableau 4 - 1 (suite)** : General physical and chemical dissolved (<0.22 µm) parameters of different aquatic substrates before the first freezing (replicate mean ±standard deviation).

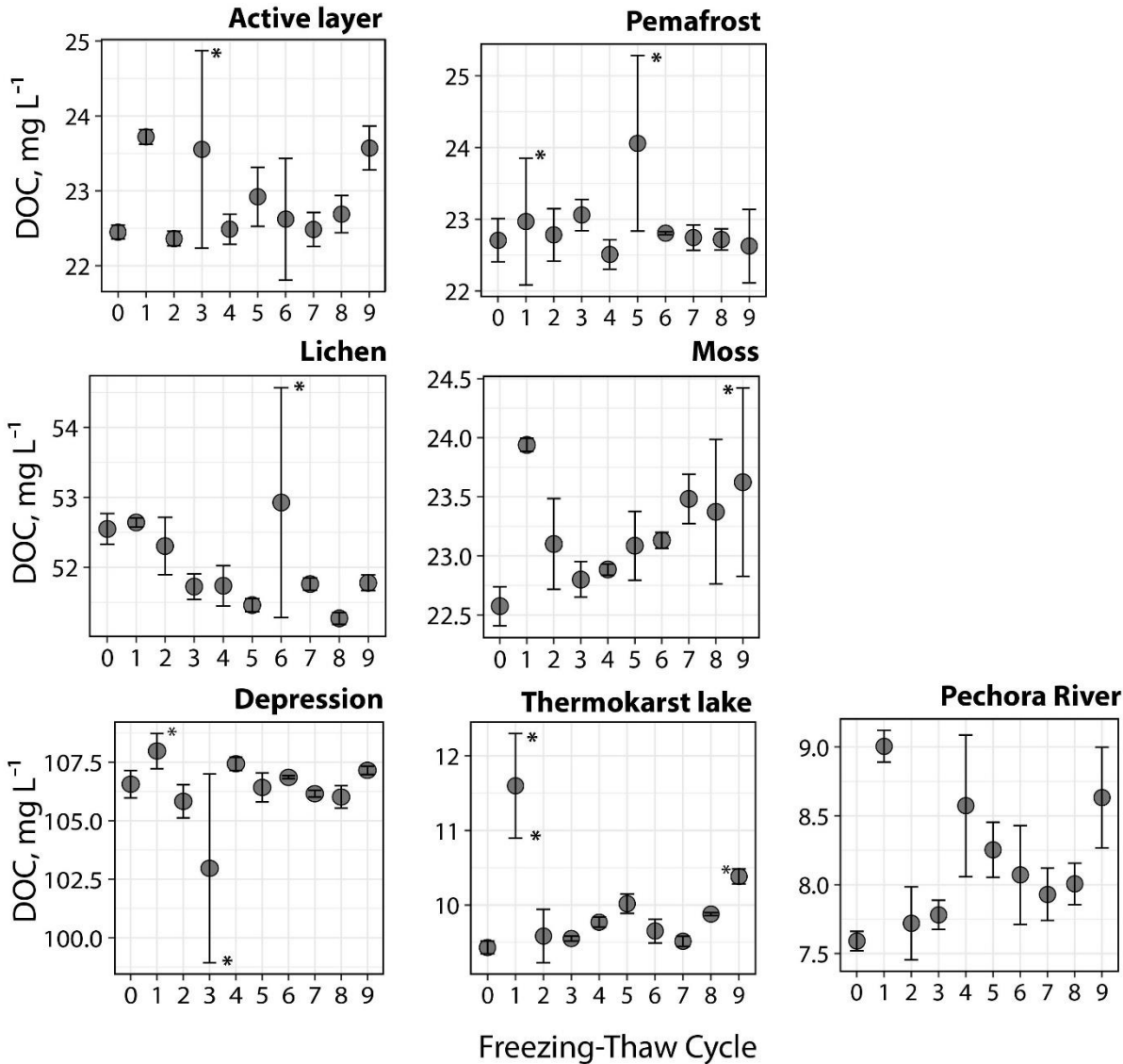
Micro- and Macro- nutrients	Si, µg L <sup>-1</sup>	67.72 ±5.6	64.49 ±1.7	146.65 ±4.1	1730.00 ±40.0	270.70 ±20.6	30.28 ±0.9	1302.50 ±30.5
	P, µg L <sup>-1</sup>	6.20 ±0.2	6.91 ±0.4	11.02 ±0.8	702.82 ±3.2	286.45 ±4.4	706.07 ±21.5	651.77 ±361.0
	Cr, µg L <sup>-1</sup>	0.14 ±0.0	0.23 ±0.0	0.30 ±0.0	0.53 ±0.0	0.30 ±0.0	0.08 ±0.0	0.07 ±0.0
	V, µg L <sup>-1</sup>	0.63 ±0.0	0.89 ±0.0	0.03 ±0.0	0.14 ±0.0	0.63 ±0.0	0.10 ±0.0	0.15 ±0.0
	Mn, µg L <sup>-1</sup>	5.82 ±0.4	8.79 ±0.0	0.70 ±0.0	11.15 ±0.1	5.72 ±0.1	0.35 ±0.0	0.78 ±0.0
	Fe, µg L <sup>-1</sup>	81.28 ±5.2	122.95 ±0.3	4.76 ±0.5	475.60 ±7.3	1327.50 ±22.5	66.93 ±4.0	180.15 ±6.7
	Co, µg L <sup>-1</sup>	0.17 ±0.0	0.23 ±0.0	0.02 ±0.0	0.25 ±0.0	1.26 ±0.0	0.01 ±0.0	0.00 ±0.0
	Ni, µg L <sup>-1</sup>	0.53 ±0.0	0.72 ±0.0	0.07 ±0.0	0.92 ±0.0	1.54 ±0.0	0.45 ±0.0	0.44 ±0.0
	Mo, µg L <sup>-1</sup>	0.02 ±0.0	0.03 ±0.0	0.02 ±0.0	0.00	0.27 ±0.0	0.01 ±0.0	0.09 ±0.0
Trivalent hydrolysates	Al, µg L <sup>-1</sup>	23.73 ±2.1	26.82 ±0.6	11.21 ±0.1	206.85 ±3.5	93.94 ±1.6	25.95 ±0.9	5.43 ±0.1
	Ga, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.01 ±0.0	0.00	0.01 ±0.0	0.04 ±0.0	0.00	0.00
	Y, µg L <sup>-1</sup>	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	0.20 ±0.0	0.01 ±0.0	0.06 ±0.0	0.07 ±0.0
	La, µg L <sup>-1</sup>	0.01 ±0.0	0.02 ±0.0	0.02 ±0.0	0.20 ±0.0	0.02 ±0.0	0.05 ±0.0	0.06 ±0.0
	Ce, µg L <sup>-1</sup>	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	0.04 ±0.0	0.52 ±0.0	0.03 ±0.0	0.11 ±0.0	0.07 ±0.0
	Pr, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	0.06 ±0.0	0.00	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0
	Nd, µg L <sup>-1</sup>	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	0.25 ±0.0	0.01 ±0.0	0.06 ±0.0	0.07 ±0.0
	Dy, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	0.04 ±0.0	0.00	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0
Yb, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	0.02 ±0.0	0.00	0.01 ±0.0	0.01 ±0.0	
Tetravalent hydrolysates	Ti, µg L <sup>-1</sup>	0.06 ±0.0	0.07 ±0.0	0.27 ±0.0	0.75 ±0.0	0.37 ±0.0	0.13 ±0.0	0.16 ±0.0
	Zr, µg L <sup>-1</sup>	0.04 ±0.0	0.05 ±0.0	0.02 ±0.0	0.32 ±0.0	0.09 ±0.0	0.06 ±0.0	0.03 ±0.0
	Hf, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	0.01 ±0.0	0.00	0.00	0.00
	Th, µg L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.01 ±0.0	0.06 ±0.0	0.00	0.00	0.00
Toxicants	As, µg L <sup>-1</sup>	0.83 ±0.1	1.18 ±0.0	0.07 ±0.0	0.19 ±0.0	0.20 ±0.0	0.36 ±0.0	0.76 ±0.0
	Pb, µg L <sup>-1</sup>	0.03 ±0.0	0.02 ±0.0	0.04 ±0.0	0.20 ±0.0	0.06 ±0.0	0.06 ±0.0	0.69 ±0.5

First observations of the evolution of DOC concentration during the FTC demonstrated some visual outliers. A boxplot repartition on data revealed that some of the data points can be statistically considered as outliers (see description of outliers given in **sous-section 4.4.3; Figure 4 - 1** and **Tableau 4 - S 2**). These outliers are believed to be sampling artifacts. Some samples demonstrated an increase in certain elements concentration during FTC, which is counterintuitive given that all samples were 0.22  $\mu\text{m}$  filtered prior to the incubation and also 0.22  $\mu\text{m}$  filtered at each sampling. Furthermore, these increases were non-systematic and non-reproducible among replicates. We hypothesize that FTC can generate aggregates of DOC and metal hydroxides (see **sous-section 4.5.5**) thus producing some “islands” of solute-rich and solute-poor fluids. During the sampling procedure, even under continuous stirring, one can randomly collect some aggregate-enriched aliquots. Because *i*) each sampling are independent and *ii*) the presence of such aggregates, revealed by abnormal DOC concentrations, can biased other measured parameters (absorbance and trace elements concentrations), we have removed the outliers (about 7% of all collected data, removed data can be found in the **Tableau 4 - S 2**). In the rest of this study, results and discussions will only deal with the new data set (*i.e.* without outliers).

#### **4.6.3 Quantification of freeze-thaw cycles impact on DOC concentration and quality**

The evolution of DOC concentration during FTC (**Figure 4 - 1**) exhibited various trends. The DOC concentration slightly increased between the initial stage (prior to the first freezing, *i.e.* FTC0) and after the last freezing (FTC9) in the active layer leachate ( $5 \pm 2\%$ ), the thermokarst lake (8%) and the Pechora River ( $14 \pm 4\%$ ) (**Figure 4 - 2** and **Tableau 4 - S 3**). The variations of DOC in other samples were lower than 5%. However, only the increase of thermokarst lake DOC with FTC was superior to 5% and significant ( $p\_value < 0.05$ ; **Figure 4 - 2** and **Tableau 4 - S 4**). Former studies demonstrated decreasing DOC concentration in the course of FTC with a range of DOC loss from 7 to 25% (Pokrovsky et al., 2018; Fellman et al., 2008). Fellman et al. (2008) demonstrated that the initial concentration of DOC strongly influences the removal efficiency, with a loss of 7% when the concentration is  $< 5 \text{ mg L}^{-1}$  and of 20% loss when the concentration is  $> 5 \text{ mg L}^{-1}$ . In the present study, all initial DOC concentrations were superior to  $7 \text{ mg L}^{-1}$  and waters with the lowest initial concentration (from 7 to  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , **Tableau 4 - 1**) exhibited an increase in DOC (*i.e.* the Pechora River and the thermokarst lake, **Figure 4 - 2** and **Tableau 4 - S 3**). Therefore, the initial concentration of DOC does not appear to control

the removal quantity of DOC in our study. Overall, low variations of DOC (< 5%, at the exception of thermokarst lake and Pechora River water), highlight the high stability of DOC when subjected to FTC. This observation is in accord with the study by Xue et al. (2015) which showed that DOC concentrations of lotic waters (which froze on 1 m thick during 3 to 5 months per year in the northern China) were highly stable (from 0.68% increase to 4.34% decrease) through FTC.

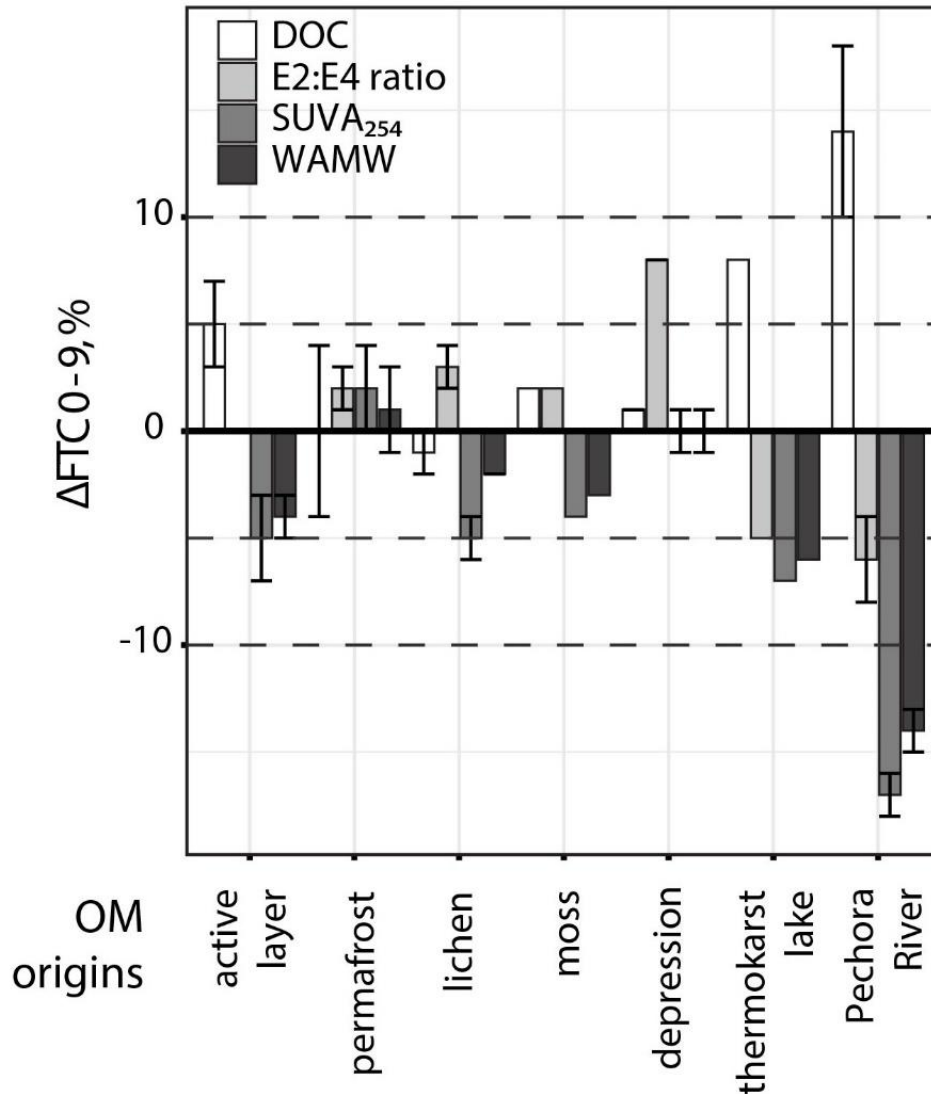


**Figure 4 - 1** : DOC concentration during FTC for each type of waters incubations. “\*” indicates the replicate for which data is considered as outliers by boxplots analyses.

The SUVA<sub>254</sub> values presented in this work do not take into account the iron corrections suggested by Poulin et al. (2014) because the differences between the uncorrected and corrected SUVA<sub>254</sub> values were below 5% for all incubated substrates at the exception of the depression (maximum 5.9%), see **Tableau 4 - S 5**. The SUVA<sub>254</sub> and WAMW values decreased

(from -6.5% to  $-(17.0 \pm 1)\%$ , and from -5.6 % to  $-(14.1 \pm 1)\%$ , respectively) between FTC0 to FTC9 in the thermokarst lake and the Pechora River, whereas in other samples, the variations were below 5% (**Figure 4 - 2**, **Figure 4 - S 2** and **Tableau 4 - S 3**). Given that the waters were sterile filtered ( $< 0.22 \mu\text{m}$ ) before the experiments, the observed decrease of SUVA<sub>254</sub> and WAMW can be only abiotically driven. This suggests that the FTC can provide an increase in non-aromatic low molecular weight components in waters from moss leachates, thermokarst lake and Pechora River. At the same time, both variations of SUVA<sub>254</sub> and WAMW in waters of thermokarst lakes and Pechora River were not significantly correlated to the number of FTC (**Tableau 4 - S 4**).

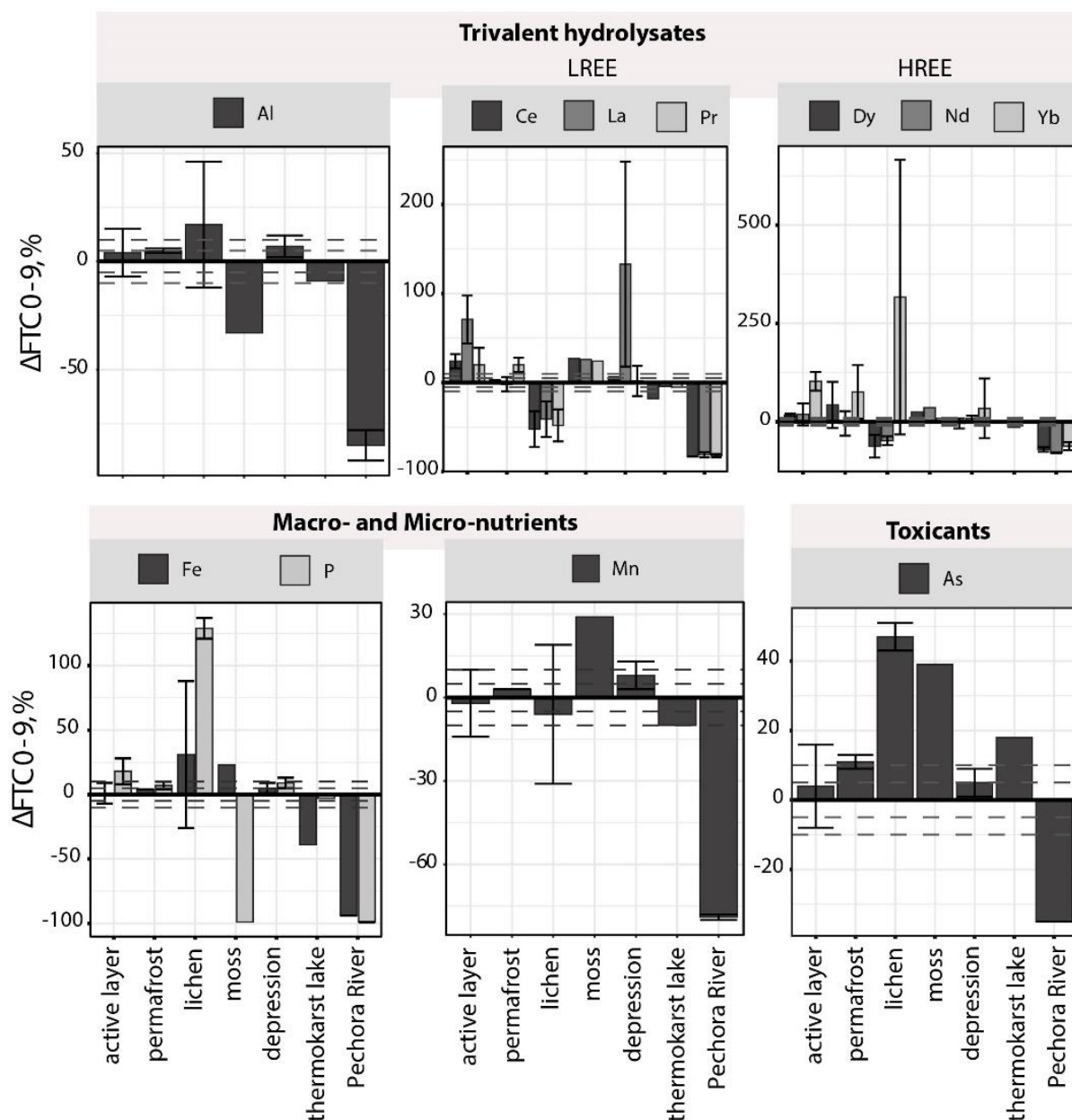
The evolution of E2:E4 ratio between 0 and 9<sup>th</sup> cycle of freezing was null to positive in all leachates ( $< 5\%$  increase), clearly positive in the depression (an increase of 8.5%), and negative in the thermokarst lake and the Pechora River ( $-5.2\%$  and  $-(5.6 \pm 2)\%$ , respectively, **Figure 4 - 2** and **Tableau 4 - S 3**). In the present study, the relative removal of humic-like aromatic components in waters from the HFa group (see *sous-section 4.5.1*, *i.e.* the thermokarst lake and the Pechora River) is corroborated by a decrease of SUVA<sub>254</sub> and WAMW values through FTC in these samples (**Figure 4 - 2** and **Figure 4 - S 3**). Unlike well-known biotically-driven degradation of humic-like aromatic components in streams and rivers waters demonstrated by the decrease of E2:E4 ratio ([Hutchins et al., 2017](#)), here we demonstrate that FTC are also capable of selective removal of humic-like aromatic compounds in lake and river water. In contrast, in leachates and depression waters, while the E2:E4 ratio slightly ( $< 10\%$ ) increased with FTC, no evidence of selective removal of LMW components have been detected (the WAMW variations were  $< 5\%$ ).



**Figure 4 - 2:** Percent variation ( $\Delta$ , %) of DOC quantity and quality parameters (DOC concentration,  $SUVA_{254}$ , E2:E4 ratio and WAMW) between final (FTC 9) and initial (FTC 0) steps of the freezing-thawing experiment. Error bars presented here reflect the standard deviation of replicates.

#### 4.6.4 Trace element behavior during FTC

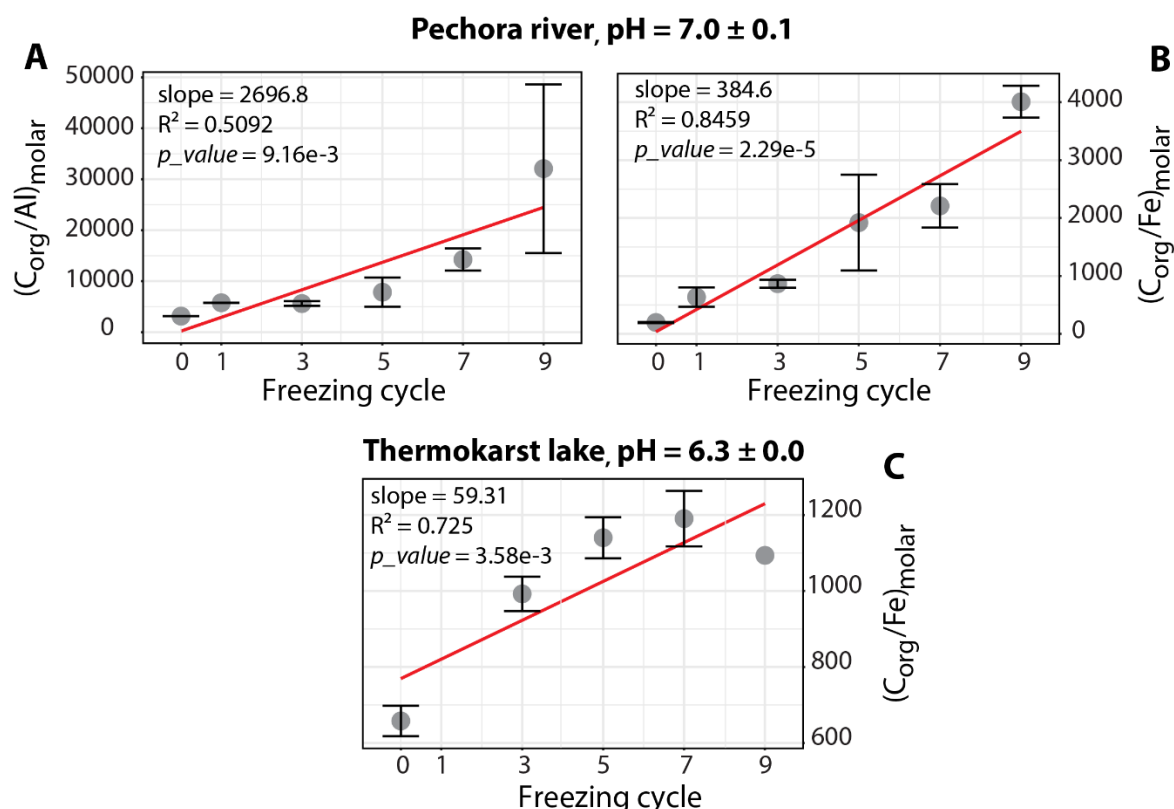
A clear decrease of Fe concentration during FTC in thermokarst lake and the Pechora River (-39.0% and -94.4%; respectively; **Figure 4 - 3**, **Figure 4 - S 4** and **Tableau 4 - S 3**) suggests the removal of this element in the form of secondary phases. The saturation index (SI) calculated *via* the vMINTEQ software indicates that iron secondary phase can precipitate in the form of akaganeite ( $FeO_{0.83}(OH)_{1.17}Cl_{0.17}$ , SI: 1.8 to 2.1), goethite ( $Fe(OH)_3$ , SI: 0.7 to 1.0) and lepidocrocite ( $Fe^{3+}O(OH)$ , SI: 0.6 to 0.9) in all surface waters. In the case of thermokarst lake and the Pechora River, a significant ( $p < 0.05$ ) increase in  $(C_{org}/Fe)$  molar ratio in the course of FTC was observed, which suggested a progressive depletion of Fe relative to  $C_{org}$  in the colloidal fraction (**Figure 4 - 4A and C**, and **Tableau 4 - S 4**).



**Figure 4 - 3 :** Percent variation of trivalent hydrolysates (Al, LREE and HREE), Macro- and Micro-nutrients (Fe, P, and Mn) and toxicant (As) concentrations between the last and the initial stage of FTC ( $\Delta\text{FTC0-9}$ ). Vertical dashed lines indicate variations of 5 and 10% (under and above 0). Errors bars represent the variation between replicates.

Aluminum concentration decreased during FTC of moss leachate (-33.4%), thermokarst lake (-9.4%) and Pechora River ( $-85.1 \pm 7\%$ ) samples (**Figure 4 - 4**, **Figure 4 - S 5** and **Tableau 4 - S 3**). The SI calculation did not indicate any supersaturation concerning Al oxyhydroxides. However, the formation of organo-mineral (Fe, Al) coagulates *via* coprecipitation of Fe and Al oxyhydroxides is likely given the sizable correlation ( $p < 0.05$ ) between aqueous concentrations of Fe and Al in the course of the FTC sequence (**Figure 4 - S 6**) in all waters (with an exception of moss leachate). In the case of the Pechora River, a significant ( $p < 0.05$ ) evolution of the ratio  $(C_{\text{Org}}/\text{Al})_{\text{molar}}$  with the number of FTC (**Figure 4 - 4B** and **Tableau 4 - S 4**)

suggests the formation of mixed Fe-Al-OM sub-colloidal particles as it is reported in surface waters of permafrost peatlands (Pokrovsky et al., 2016). Other trivalent hydrolyses such as Y and Ga punctually correlated with DOC and Fe during FTC (Figure 4 - S 7 and Tableau 4 - S 6). Light REE (LREE: La, Ce and Pr) correlated with Fe in the leachate of the active layer and the permafrost, and in waters of the depression and the Pechora River, whereas heavy REE (Nd, Dy, Yb) significantly correlated solely with Fe in the Pechora River (Tableau 4 - S 6).



**Figure 4 - 4 :** The molar ratio of  $C_{org}$  (A) to Al and (B) to Fe for the Pechora River substrate, and the molar ratio of  $C_{org}$  (C) to Fe for the thermokarst lake in the course of FTC. Error bars represent the variation between replicates.

Phosphate is known to be controlled by dissolved humic substances (Fellman et al., 2008; Francko, 1986; Jones et al., 1988) especially in wetlands where the high concentration of DOM and iron facilitates the complexation of DOC and P (Dillon and Molot, 1997). However, this was not observed in this study, because there was no correlation between the concentration of P and DOC, and (the molar ratio between organic carbon and phosphate did not systematically vary during the FTC in all samples (Tableau 4 - S 4). Chromium, vanadium and silicon concentrations decreased in waters of thermokarst lakes and Pechora River (Figure 4 - S 8 and Tableau 4 - S 3), whereas most of the divalent macro- and micro-nutrients (Co and Ni) exhibited a slight increase of concentration through FTC in all waters (Figure 4 - S 8 and

**Tableau 4 - S 3**). Manganese concentration clearly decreased in thermokarst lake and the Pechora River (respectively -10.4% and  $-(79.4 \pm 1)$  %) but remained stable or increased in other waters (**Figure 4 - 3**, **Figure 4 - S 9** and **Tableau 4 - S 3**). The decrease of Mn concentration and the correlation between the molar ratio  $(C_{\text{org}}/\text{Mn})_{\text{molar}}$  and FTC number could indicate a formation of Mn (hydr)oxide particles or Mn coprecipitation with organo-ferric compounds in the water of the Pechora River.

Among tetravalent hydrolysates, Ti and Zr demonstrated an increase in the Pechora River and a decrease in other waters (**Figure 4 - S 7**). Ti concentration significantly correlated with Fe in all waters (exception of moss leachate). Zirconium correlated with Fe in the leachate of the active layer, permafrost and in the depression. Hafnium and thorium correlated with Fe only in water of the depression (**Tableau 4 - S 6**). These types of correlation between iron and insoluble tetravalent hydrolysates have been observed previously in ultrafiltration experiments on boreal forest (Ilina et al., 2016) and permafrost surface waters (Pokrovsky et al., 2016) and indicate the dominance of organo-ferric high molecular weight colloids in  $\text{TE}^{4+}$  speciation.

Lead concentration increased in the course of FTC in all leachates and decreased in natural waters (**Figure 4 - S 7** and **Tableau 4 - S 3**). Arsenic (As) decreased only in the Pechora River water (**Figure 4 - 3**, **Figure 4 - S 10** and **Tableau 4 - S 3**). In riparian wetlands, the presence of As hotspots due to As association with Fe or OM was reported (Guénet et al., 2016). In the present study, linear regressions on As and DOC concentrations were non-significant ( $p > 0.05$ ) in all samples (**Tableau 4 - S 6**). In contrast, there was a strong linear regression ( $p < 0.03$ ) between As and Fe concentrations for all studied samples, except the thermokarst lake (**Figure 4 - S 11** and **Tableau 4 - S 6**). It appears then, that the As is bound to the Fe and not to the OM of either vegetations and soils leachates or natural waters. Arsenic in natural waters can be adsorbed to Fe-oxyhydroxides, such as nano-lepidocrocite (Guénet et al., 2016). Both the correlation between As and Fe concentrations and the supersaturation of solutions with respect to Fe-oxyhydroxides and lepidocrocite secondary phases observed in the present study support this hypothesis. Possible mechanisms of DOC and metal transformation during FTC

#### **4.6.5 Possible mechanisms of DOC and metal transformation during FTC.**

Two colloidal pools are responsible for TE speciation in boreal aquatic environments: *i*) small organic-rich colloids and LMW DOM, and *ii*) high molecular weight Fe-rich colloids



(Baalousha et al., 2006; Krachler et al., 2012; Stolpe et al., 2013). The LMW colloids dominate metal speciation in acidic thaw pond water and are highly stable during FTC. In contrast, high molecular weights colloids dominated mainly in neutral waters of the permafrost area and are subjected to strong removal during freezing (Pokrovsky et al., 2018). In our study, the MW of Ha and HFa group can be indicative of LMW colloids (generally ranging between 1 to 50 kDa), while the Fa group (lichen leachate and depression waters) exhibited essentially dissolved fraction (LMW<sub><1 kDa</sub>). The LMW<sub>1-50 kDa</sub> colloids are likely to dominate the metals speciation in the thermokarst lake and the Pechora River water. The stronger impact of FTC on the Pechora River and the thermokarst lake water suggests that mixed HFa OM of large terminal water bodies is most vulnerable to the freeze-thaw process. This observation can be attributed to the two binding patterns of metals and OM. These patterns depend on the maximum metal binding capacity of *i*) humic-like component which is reached at neutral to alkaline pH (7 to 9) due to maximal ionization of carboxylate and phenolic acids; and *ii*) fulvic-like component reached at acidic pH (5 to 6) when the majority of carboxylate moieties are dissociated (Garcia-Mina, 2006). Therefore, in contrast to more acidic plant and peat leachates, in the Pechora River, both the presence of humic acids (in HFa) and the neutral pH (7) and in thermokarst lake, the presence of fulvic acids (in HFa) and slightly acidic conditions (pH = 6.3), promote the aggregation of colloidal Fe *via* DOM - metal binding. Considering, based on our experimental observations, a relatively stable concentration of DOC, a decrease of SUVA<sub>254</sub>, WAMW, Fe concentrations, and an increase in C<sub>org</sub>/Fe ratio in the course of FTC, we suggest preferential degradation of humic-like components in waters from thermokarst lake and Pechora River and formation of aliphatic LMW<sub>1-50kDa</sub> colloids. On the contrary, no evidence on the formation of organic and organo-ferric colloids in other waters during FTC has been detected in our study.

#### **4.6.6 Possible role of FTC in natural environments**

Progressive accumulation of DOM and related elements in the remaining fluid due to full freezing of the water column is observed in shallow confined natural water bodies such as thermokarst lakes and ponds of permafrost peatlands (Manasyrov et al., 2015). In the present study, the effect of freezing on concentrations of most dissolved components did not generally exceed 10% and was limited to simple physicochemical reactions given that all samples were sterile-filtered before the first freezing. In contrast, in a non-sterile FTC experiment that used various soils from marsh and wet grasslands, a strong DOC production (100 to 300 mg L<sup>-1</sup>)

compared to samples not subjected to FTC was reported (Yu et al., 2011). This increase was believed to be the consequence of microbial cells lysis, physical disruption of soils aggregates, and roots turnover (Bochove et al., 2000; DeLuca et al., 1992; Ivarson and Sowden, 1970; Tierney et al., 2001). In natural permafrost aquatic and soil environments, microbial communities are highly resistant to FTC (Lipson and Monson, 1998; Stres et al., 2010). This suggests that both the capacity of micro-organisms to quickly recover and efficiently biodegrade OM, together with the abiotic transformation of DOC during and after repetitive freezing can become a sizable source of LMW DOC, as also reported in previous studies (Pokrovsky et al., 2018). Further, whereas the freezing process can impact the DOM concentration, the thawing duration (hours or days) has little effect on the DOC aromaticity of leachates (Hentschel et al., 2008; Vestgarden and Austnes, 2009). This implies that the rapid thawing of ice in nature could lead to the production of more easily biodegradable OM components.

The results of the present study demonstrated rather minor (i.e.,  $\leq 10\%$ ) effects of freeze-thaw cycles on DOC quantity and quality in various leachates of soils and vegetation which indicates strong stability of DOM in typical surface waters of boreal peatlands (except large river). As such, the FTC may be of sub-ordinary importance on DOM transformation in surface waters of permafrost peatlands relative to other biotic and abiotic factors such as heterotrophic degradation and photolysis (Payandi-Rolland et al., 2020a; Shirokova et al., 2019a). In contrast, the “mineral” part of organo-mineral colloids present in natural waters was subjected to removal from solution due to freezing as indicated by an increase in  $C_{org}/Fe$  and  $C_{org}/Al$  molar ratios in the course of FTC of river and lake water. In this regard, the impact of FTC on trace metal can be competitive to bio- and photo-transformation of trace metal colloids (Oleinikova et al., 2017b, 2018). Therefore, the first hypothesis of this study was confirmed only for the large river, where both Fe and Al were removed preferentially to DOC. For a thermokarst lake, this hypothesis was only partially confirmed (solely Fe removal). Such a removal of Fe, Al and other metal were not observed in vegetation and soil leachates and in the depression water, thus confirming a subsidiary role of freezing on DOM and metal fate in surface waters of permafrost peatlands. This dismisses the second hypothesis of this study on the highest sensitivity of fresh leachates to freezing: regardless of the origin of vegetation leachates (moss and lichen), the change in concentration of DOC and metals during FTC was inferior to that of river and lake waters. In contrast, large water bodies such as the Pechora

River or a thermokarst lake meet the ideal conditions for stabilization of OM-mineral colloids. In these settings, the FTC can facilitate aquatic transport of C, nutrients and metals from peatlands surface waters to the Arctic Ocean. However, because the full freezing of large surface water bodies is unlikely compared to small depressions and soil porewaters, the overall impact of FTC on DOC and metal transformations in permafrost peatlands is expected to be low. As such, unlike the bio- and photo-degradation of permafrost DOM in Arctic waters (Cory et al., 2014; Vonk et al., 2015a), which has to be considered in models of the future arctic C balance (McGuire et al., 2018), the freeze-thaw cycles are likely to be of secondary importance for C transformation in Arctic continental waters.

## ***4.7 Conclusions***

This study demonstrated that the pH and OM composition (aromaticity, molecular weight, proportion of humic and fulvic components) are the main factor controlling the DOC (< 0.22  $\mu\text{m}$ ) removal from surface waters of permafrost peatlands under freeze-thaw cycles. No quantitative relationship was established between both DOC quantity and quality and the number of FTC in the acidic, DOC-rich aqueous leachates of terrestrial vegetation and various peat horizons. We also observed sizable stability of DOC and metal complexes present in typical surface and soil waters of permafrost peatlands with respect to freeze-thaw cycles. The exceptions are the circumneutral, humic- and fulvic-rich waters of the thermokarst lake and the Pechora River, which likely exhibited formation of Fe- and Al-rich organo-mineral particles. In contrast to DOC concentration which remained rather stable with FTC, trace element variations were pronounced and often exceeded 10%. Thus, in the Pechora River water, concentrations of metal micronutrients and trace elements sizably decreased during FTC. This was also partially pronounced in the thermokarst lake water. As such, large water bodies are most subjected by the FTC impact on OM-mineral colloids transport from lakes and rivers to the Arctic Ocean. This impact can be further accentuated due to enhanced FTC frequency under on-going climate warming in high latitudes.

## ***4.8 Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse***

- Dans la partie « 4.2.1 – Résumé » :

Il est nécessaire de préciser qu'aucun contrôle sans cycle de gel et de dégel n'a été effectué durant cette expérience.

- Dans la partie « 4.5.1 – Substrates origins and use » :

Selon les rapporteurs, il aurait été intéressant de réaliser un suivi de la présence bactérienne (cytométrie en flux) afin de vérifier la stérilité des incubations. En effet, la filtration stérilisante à 0,22 µm ne prévient pas totalement de la présence de bactéries et surtout de spores de champignons pouvant se développer par la suite.

- Dans la partie « 4.5.2 – Incubation, freeze-thaw cycles and sampling » :

Il semble nécessaire de préciser que dans le cas des mesures d'absorbances UV, les échantillons ne sont pas acidifiés avant la mesure.

De plus, il est nécessaire de spécifier que les MO issues des lixiviats de végétations sont très labiles et que la minéralisation de cette MO peut avoir commencée avant l'incubation des filtrats, c'est-à-dire durant les 3 jours de l'étape de lixiviation.

Les rapporteurs proposent de récupérer les résidus de filtration de chaque prélèvement afin de les peser et de les sécher pour déterminer le poids des flocules formés dans les incubations. Malheureusement, les résidus de filtrations sont en trop faible quantité pour en déterminer le poids.

- Dans la partie « 4.6.2– Visual impact of freezing process on DOM and removal of outliers » :

À la phrase « These outliers are believed to be sampling artifacts. Some samples demonstrated an increase in certain elements concentration during FTC, which is counterintuitive given that all samples were 0.22 µm filtered prior to the incubation and also 0.22 µm filtered at each sampling » et après lecture des commentaires donnés par les rapporteurs, il semble nécessaire de préciser que les incubations n'ont pas été refiltrées après chaque prélèvement afin de prévenir d'une possible croissance bactérienne.

- Dans la partie « 4.6.3– Quantification of freeze-thaw cycles impact on DOC concentration and quality » :

À la phrase « The evolution of DOC concentration during FTC (Figure 4 - 1) exhibited various trends. The DOC concentration slightly increased between the initial stage (prior to the first freezing, i.e. FTC0) and after the last freezing (FTC9) in the active layer leachate ( $5 \pm 2\%$ ), the thermokarst lake (8%) and the Pechora River ( $14 \pm 4\%$ ) (Figure 4 - 2 and Tableau 4 - S 3) » les rapporteurs questionnent sur l'absence de la déviation standard (std) concernant le lac thermokarstique (8 %).

Cette déviation n'est pas donnée car elle ne peut pas être calculée. En effet, la valeur du réplica a été déterminée comme aberrante par les statistiques et donc retirée du jeu de données utilisé. Il est donc impossible de fournir la déviation standard du lac thermokarstique.

- En général :

Il faut souligner que dans le cas de cette expérience le comptage bactérien aurait été une analyse clé permettant de confirmer ou de réfuter le rôle bactériologique dans la complexation MO-minéraux.

A la fin de cette étude, une question a été soulevée par les rapporteurs et reste en suspens : « comment les éléments métalliques peuvent être affectés par les cycles de gel et de dégel mais pas la MO alors qu'ils sont tous les deux liés ? »



# ***Chapitre 5***

## ***Biodégradation de la matière organique en conditions aérobies et anaérobies***

# ***Introduction***

Comme évoqué dans le ***chapitre 1, section 1.1***, il existe deux grandes conditions pour lesquelles le carbone de la tourbe peut être dégradé, et plus précisément biodégradé : en condition aérobie et en condition anaérobie. Ce chapitre est donc divisé en 2 sections : la première (***section 5.1***), concerne la biodégradation en condition aérobie de la tourbe et plus précisément de l'impact de la température et du rôle des bactéries hétérotrophes aérobies sur le potentiel de biodégradation de la MO, à travers une expérience d'incubation en laboratoire. Ce sujet est présenté sous la forme d'un article publié en 2020 dans la revue « Chemical Geology ». La deuxième section, concernant la biodégradation en condition anaérobie (***section 5.2***) est une présentation préliminaire des données obtenues lors de l'incubation d'un profil de sol en laboratoire (cf. ***chapitre 1, partie 1.2.3.4***). En effet, la pandémie de COVID 19 a fortement affecté cette expérience de laboratoire initiée en février 2020. Cependant, les données acquises jusqu'à aujourd'hui sur la production de GES en fonction de la profondeur sont relativement assez nombreuses pour en discuter et proposer différentes perspectives pouvant être envisagées afin d'approfondir les connaissances sur la biodégradation anaérobie de la tourbe.



## **Section 5.1**

# ***Aerobic release and biodegradation of dissolved organic matter from frozen peat: Effect of temperature and heterotrophic bacteria***

**Ref.:** Payandi-Rolland, D., Shirokova, L.S., Nakhle, P., Tesfa, M., Abdou, A., Causserand, C., Lartiges, B., Rols, J.-L., Guérin, F., Bénézech, P., Pokrovsky, O.S., 2020. Aerobic release and biodegradation of dissolved organic matter from frozen peat: Effects of temperature and heterotrophic bacteria. *Chemical Geology* 536, 119448. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2019.119448>

**Data set:** available with the DOI: 10.17632/gys62x6z6n.1#file-ea2faf72-4d95-4a1a-b670-d69e92a04f6b

### **CRediT authorship contribution statement:**

**D. Payandi-Rolland:** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.  
**L.S. Shirokova:** Conceptualization, Investigation, Writing - original draft.  
**P. Nakhle:** Investigation. **M. Tesfa:** Investigation. **A. Abdou:** Investigation.  
**C. Causserand:** Formal analysis. **B. Lartiges:** Investigation, Writing - original draft.  
**J-L. Rols:** Investigation, Writing - original draft. **F. Guérin:** Investigation, Writing - original draft. **P. Bénézech:** Writing – original draft. **O.S. Pokrovsky:** Conceptualization, Writing - original draft

## 5.1.1 Aperçu de l'article en français

### 5.1.1.1 Résumé

Comprendre les conditions de relargage de la matière organique dissoute (MOD), provenant du dégel de la tourbe des régions arctiques, ainsi que le processus d'utilisation de cette MOD par les bactéries hétérotrophes des sols et des eaux, est important dans un contexte de changement climatique rapide. Jusqu'à aujourd'hui, les approches expérimentales ne permettent pas la prédiction des effets des températures et des biotes sur le relargage du carbone provenant de la tourbe dans un environnement d'eau affecté par la présence d'un pergélisol. Dans cette étude, afin de quantifier le relargage et le taux d'utilisation du carbone organique (CO), par les bactéries hétérotrophes, avec le temps nous avons incubé de la tourbe gelée et son lixiviat à différentes températures (4, 25 et 45 °C) en présence ou non d'une souche de bactérie hétérotrophe (une espèce extraite de lacs thermokarstiques : *Iodobacter sp.*). La diversité métabolique de la communauté autochtone de la tourbe (impliquée dans l'utilisation du CO) a aussi été caractérisée. L'observation de la tourbe par microscopie électronique à transmission a révélé que les bactéries associées à la dégradation de la MO sont majoritairement localisées dans les parties internes des cellules végétales, et que cette biodégradation est plus prononcée à 4 et 25 °C qu'à 45 °C. Par ailleurs, la diversité métabolique apparaît égale à 4 et 25 °C, mais plus faible à 45 °C. De plus, sans tenir compte du consortium bactérien (communauté autochtone seule *versus* avec ajout de la bactérie hétérotrophe cultivée), à la fois le relargage de CO par la tourbe et son utilisation par les bactéries hétérotrophes apparaissent similaires à 4 et 25 °C. L'énergie d'activation apparente de la biodégradation de MOD, qui est faible (voire négative) aux basses et moyennes températures étudiées ( $E_{a_{biodégradation(4-25^{\circ}\text{C})}} = -4,23 \pm 12,3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) suggère qu'une brève augmentation des températures des eaux de surfaces pourrait avoir un impact moindre sur l'utilisation de la MOD par les micro-organismes. Une telle période, d'environ 1 à 3 semaines, est comparable au temps de résidence des eaux dans les dépressions tourbeuses et les subsidences du pergélisol dans lesquelles la dégradation de la tourbe et la biodégradation de la MOD se produisent en milieu naturel. Cela remet en question le paradigme actuel d'un effet drastique de l'augmentation des températures sur le relargage du CO par les tourbières gelées, ce qui doit être pris en compte pour les modélisations à court terme de l'impact du réchauffement climatique sur ces régions de hautes latitudes.

### 5.1.1.2 Conclusions

Les incubations réalisées en laboratoire dans le cadre de cette étude ont eu pour but de quantifier plusieurs paramètres contrôlés (la température et la présence d'une bactérie hétérotrophe), ce qui ne peut pas être entièrement représentable de la grande diversité des environnements aquatiques naturels. En particulier, cette étude ne tient pas compte des flux verticaux et latéraux d'eaux dans les sols, de l'apport de MO particulière (MOP) fraîche, de l'utilisation de la MOP par la communauté microbienne, des changements journaliers de températures et des cycles de balance entre respiration et photosynthèse. Toutefois, l'incubation de tourbe gelée et de son lixiviat avec et sans ajout de bactérie hétérotrophe cultivable et soumis à un éventail de températures large, a permis d'obtenir de nouvelles observations nécessaires à la conception de modèles biogéochimiques du cycle du C lors du dégel du pergélisol et le réchauffement des eaux de surface dans les zones de tourbières affectées par le pergélisol. Ces observations sont les suivantes :

- (i) Le lessivage et la biodégradation aérobie du lixiviat de la tourbe durant le début du printemps et la fin de l'automne (températures des eaux de surface et des fluides entre 0 et 4 °C) entraîne un relargage et une consommation de quantités similaires de CO<sub>2</sub> à celles observées à 25 °C, *i.e.* une température typique des eaux de surface de ces régions en été. La forte biodisponibilité du carbone, provenant de la tourbe et transitant dans les lacs et les systèmes fluviaux au début et à la fin de la période active (période de dégel), est inattendue et soulève l'importance de prendre en compte la totalité de la période active dans les estimations du relargage de C dans l'environnement naturel. Le fort apport de MO nouvellement disponible, provenant de la tourbe gelée et transmise aux écosystèmes aquatiques, est susceptible de se produire au début de la formation des lacs thermokarstiques dans les dépressions tourbeuses et ne nécessitant pas des températures d'été très élevées.
- (ii) Les changements temporels de diversité fonctionnelle durant les 4 semaines d'incubation suggèrent que la migration vers des profondeurs plus élevées du front de dégel (de l'interface entre la couche active et le pergélisol) intensifiera et diversifiera l'activité microbienne des tourbières gelées sur une courte échelle de temps. Globalement, la forte diversité métabolique de la communauté microbienne autochtone observée (issue de la tourbe gelée) reflète un fort

potentiel de minéralisation du C par des consortia naturels en comparaison des ajouts de bactéries hétérotrophes cultivables.

- (iii) Cette étude, bien que qualitative (quelques observations et forte hétérogénéité de la tourbe gelée utilisée), montre la dégradation préférentielle des parties internes des cellules végétales par les bactéries hétérotrophes et la dégradation de phospholipides menant au relargage de phosphate dans les phases liquides des incubations.

### **5.1.2 Abstract**

Understanding the conditions of dissolved organic matter (DOM) release from thawing peat in the Arctic regions and identifying the pathways of processing DOM by soil and aquatic heterotrophic bacteria are critical in the context of rapid climate change. Until now, experimental approaches did not allow quantitative predictions of temperature and biota effects on carbon release from peat in permafrost-affected aquatic environments. In this study, we incubated frozen peat and its aqueous leachate at various temperatures (4, 25 or 45 °C), with and without culturable heterotrophic bacteria *Iodobacter* sp., extracted from thermokarst lakes, to quantify the release and the removal rate of organic carbon (OC) with time. The metabolic diversity of the native microbial community associated with the substrates involved in OC processing was also characterized. Transmission electron microscopy revealed that, after degradation, the associated bacteria are mostly located in the inner parts of plant cells, and that the degradation of organic matter around bacteria is more pronounced at 4 and 25 °C compared to 45 °C. The metabolic diversity of heterotrophic bacteria was equally high at 4 and 25 °C, but lower at 45 °C. Regardless of the microbial consortium (native community alone or with added culturable heterotrophs), both the OC release from peat and the OC removal from peat leachate by bacteria were similar at 4 and 25 °C. Very low apparent activation energies of DOM biodegradation between 4 and 25°C ( $-4.23 \pm 12.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) suggest that the short-period of surface water warming in summer would have an insignificant effect on DOM microbial processing. Such duration (1-3 weeks) is comparable with the water residence time in peat depressions and permafrost subsidence, where peat degradation and DOM microbial processing occur. This questions the current paradigm of a drastic effect of temperature rise on organic carbon release from frozen peatlands, and should be considered for modelling short-term climate impacts in these regions.

### 5.1.3 Introduction

Permafrost wetlands that store a large amount of carbon (C) in Arctic regions are severely affected by the ongoing global warming, which is referred to as the “Arctic amplification” (Overland and Wang, 2013; Serreze et al., 2009). Climate scenarios in Arctic regions predict that air temperature will increase by 2 to 4.9 °C before the end of the century (Raftery et al., 2017). This will increase the active layer thickness (ALT) and enhance soil subsidences and abrupt thermokarst events (Grosse et al., 2011; Turetsky et al., 2019). As a consequence, a substantial amount of previously sequestered organic matter (OM, about 1330-1580 Pg-C) trapped in the permafrost (Hugelius et al., 2014; Schuur et al., 2015) might be mobilised and reinjected into the global C cycle. The microbially-driven degradation of the released OM in the active layer or in thaw (thermokarst) lakes, generated by the soil surface subsidence can also be strongly affected by rising temperatures due to climate warming (Grosse et al., 2011; Kirpotin et al., 2009; Kokelj and Jorgenson, 2013; Shirokova et al., 2009).

Permafrost thaw occurs mostly in Arctic regions, mainly where soil temperature fluctuates around 0 °C (Romanovsky et al., 2010) and where the permafrost is discontinuous to sporadic. Boreal and subarctic peatlands occupy large regions with significant soil C stocks in the form of frozen and thawing peat, namely in the Western Siberia Lowland (WSL, 1,300,000 km<sup>2</sup>), North-Eastern European Tundra (300,000 km<sup>2</sup>), Canada (1,240,000 km<sup>2</sup>; with the Hudson Bay Lowland accounting for 372,000 km<sup>2</sup>; Packalen et al., 2014), USA (625,000 km<sup>2</sup>), Finland (96,000 km<sup>2</sup>) and Sweden (70,000 km<sup>2</sup>) (Gorham, 1991; Kuhry and Turunen, 2006; Vitt, 2006). These wetlands are subjected to highly pronounced degradation of frozen peat and massive permafrost thaw (Kokelj et al., 2017b, 2017a; Loiko et al., 2017; Overland and Wang, 2013). For example, from 2000 to 2015, the average annual soil temperature of the North-Eastern European Tundra increased from  $-2 \pm 1$  °C to  $+1.5 \pm 0.5$  °C which produced sizeable increase in ALT and caused major soil subsidences (Kaverin et al., 2017). It is worth noting that the Eastern European Arctic may be among the key northern regions from which positive and negative carbon-climate feedbacks are likely to arise in the future (Ciais et al., 2019). The main mechanism that underpins such feedback is the microbial processing of DOM of peat (terrestrial) origin, as it has already been shown from various non-permafrost (Berggren et al., 2010) and permafrost (Drake et al., 2015; Mann et al., 2015) settings. Since the DOM processed by the microbial community in surface waters can be released to the atmosphere

as carbon dioxide and methane, it is important to better understand the pathways of these processes to predict their impact on the climate.

The main objective of this study was to evaluate the impacts of temperature and heterotrophic bacteria on C release and DOM biodegradation, using both the frozen peat and its aqueous leachate. We hypothesized an enhanced release of DOM from peat and its biodegradation due to an acceleration of heterotrophic bacteria metabolism with increasing temperature. Usually, both aerobic and anaerobic incubations are used to assess the biodegradability of permafrost soil materials (Heslop et al., 2019; Knoblauch et al., 2013; Schädel et al., 2016; Treat et al., 2014; Waldrop et al., 2010) and a few microbiological studies of autochthonous bacterial communities in peat demonstrated that these communities are dominated by Alphaproteobacteria and Acidobacteria (Ausec et al., 2009; Basiliko et al., 2013; Dedysh, 2011; Dedysh et al., 2006; Kraigher et al., 2006; Pankratov et al., 2011). However, in this work, we focused on aerobic incubation, because *i*) most surface waters of frozen peatlands and supra-permafrost waters interacting with soil peat are fully or partially oxygenated (Loiko et al., 2017; Manasyrov et al., 2015; Raudina et al., 2018) and *ii*) the potential C emissions under aerobic conditions are higher than under anaerobic conditions (Schädel et al., 2016). For these incubations, we selected cultivable heterotrophic species (*Iodobacter* sp.) extracted from thermokarst lakes in a discontinuous permafrost peatland area and known to occur in arctic lake sediments (Shirokova et al., 2017b; Su et al., 2013). The choice of this bacterium was also made to simulate the interaction between frozen peat and surface waters, in which aquatic bacteria rather than soil bacteria may dominate the processing of organic carbon.

## **5.1.4 Material and Methods**

### **5.1.4.1 Bacteria and substrate: origins and use**

Heterotrophic bacteria (*Iodobacter* sp., CdM7, Proteobacterian, Betaproteobacteria) were isolated from thermokarst lakes located in NE Europe permafrost-bearing peat bogs (Shirokova et al., 2017b). These aerobic gram-negative bacteria, rod-shaped cells (0.7 µm wide and 1.4 to 1.7 µm length) have one or several polar and lateral flagella. The bacteria were cultured to a stationary stage in a 10% nutrient broth (NB) on a shaker for 5 days at 25 °C in darkness. Prior to the addition of peat substrate, the heterotrophic bacteria were starved in

0.01 M NaCl for 3 days to remove internally and surface adsorbed nutrient resources (Bundeleva et al., 2012, 2014; Shirokova et al., 2012, 2017). This treatment did not affect cell viability.

The frozen peat was collected at the edge of a thermokarst lake in the Bolshezemelskaya Tundra zone of NE Europe (discontinuous permafrost area, see Shirokova et al., 2019a for details), underneath the active layer (from 30 to 40 cm depth). The oligotrophic peat is 35% degraded and composed of *Sphagnum angustifolium* (20%), cotton-grass *Eriophorum* (25%), *Scheuchzeria palustris* (15%), bog-sedge *Carex limosa* (5%), lichens (5%), dwarf shrubs (5%) and some amount of wood debris (pine) and green mosses. The studied peat essentially made of *Sphagnum* is representative of boreal peatland ecosystems (Turetsky et al., 2008).

Two types of organic substrates were used for experiments: (1) solid frozen peat (SFP), sampled using a Russian peat corer (see details of sampling and handling in Morgalev et al., 2017) and kept frozen until its use in the laboratory and (2) aqueous leachate of this frozen peat (FPL). The leachate was prepared *via* reacting the frozen peat with sterile MilliQ water ( $10 \text{ g}_{\text{dry}} \text{ L}^{-1}$ ), in aerobic conditions at room temperature under gentle mixing on a shaker. An initial DOC concentration between 12 and 20  $\text{mg L}^{-1}$  was then reached, consistent with that occurring in natural thaw ponds and depressions of the permafrost zone (10-100  $\text{mg L}^{-1}$ , (Pokrovsky et al., 2016; Raudina et al., 2018). Note that, because the SFP contained its native microbial community, all incubations were run in the presence of this microbial community. After 3 days of reaction, the suspension was centrifuged at 4,500 g for 5 to 10 minutes, filtered through a 0.45  $\mu\text{m}$  Nalgen sterile filter and then used as a substrate in experiments.

#### **5.1.4.2 Experimental setup**

##### **a. Incubations**

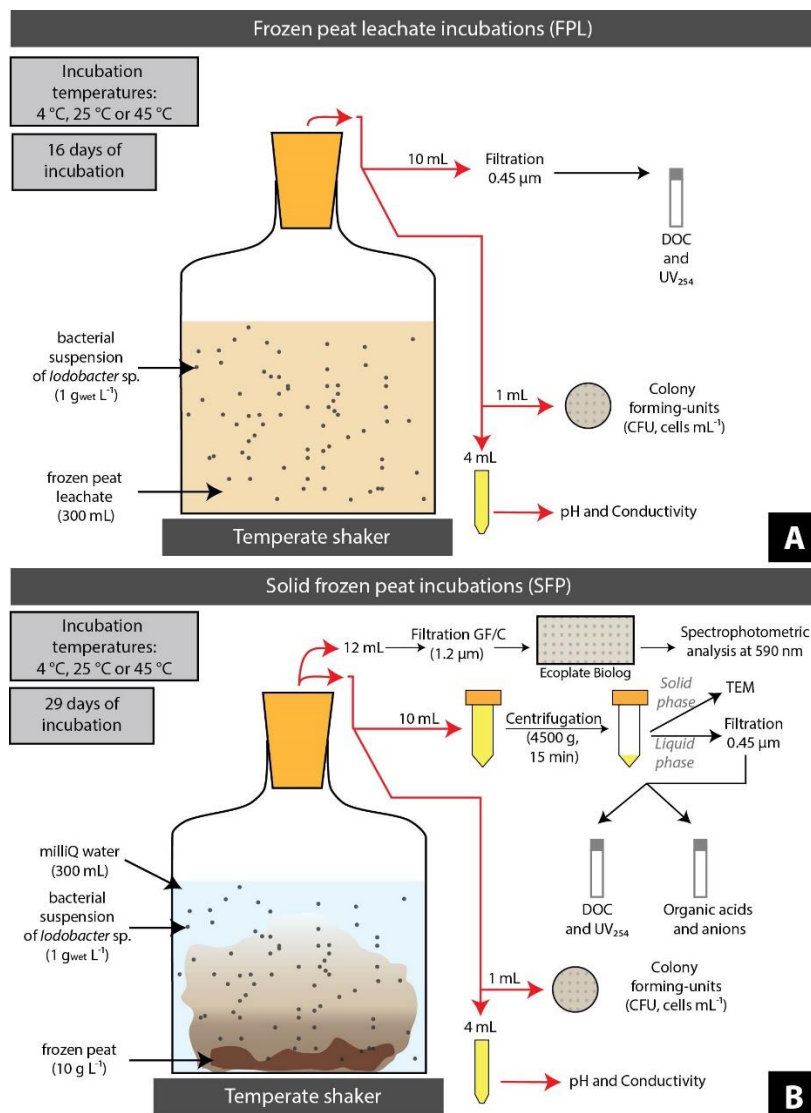
A scheme of the incubations setup is given in **Figure 5 - 1**. A homogeneous suspension of the heterotrophic bacteria was transferred into 500 mL sterile bottles, with either solid peat ( $10 \text{ g}_{\text{dry}} \text{ L}^{-1}$  in 300 mL of milliQ water) or aqueous peat leachate (300 mL), to obtain an initial bacterial biomass of  $1 \text{ g}_{\text{wet}} \text{ L}^{-1}$ . Reactors of substrate with and without added heterotrophic bacteria were placed at 4, 25 or 45 °C under aerated conditions (the aeration was achieved via Biosilico® porous stoppers) in a thermostated ping-pong shaker (25 and 45 °C), or on a ping-pong shaker placed in the dark inside a refrigerator (4 °C). The three chosen

temperatures correspond to currently observed conditions: (i) at the beginning of spring and end of autumn (4 °C, [Manasyrov et al., 2015](#)), (ii) in thermokarst lakes waters during summer (25 °C, [Shirokova et al., 2019, 2013](#)) and (iii) 45 °C, a temperature that can be reached on the surface of moss and lichen cover during summer heatwaves (*i.e.* [Pokrovsky et al., 2013](#)). The last case was used to reproduce possible maximum short-term summer temperatures expected in the case of most extreme scenarios of water or soil local heating. The control experiments were 0.45 µm-filtered frozen peat leachate, or frozen peat with MilliQ water, without the addition of *Iodobacter* sp. They were incubated under the same conditions as the experiments with added heterotrophic bacteria. As mentioned before, frozen peat comes with native microbial community, therefore in non-added heterotrophic bacteria experiments, the controls represented the activity of native microbial community associated with the peat substrates (SFP or FPL).

#### ***b. Sampling and chemical analyses***

The SFP and FPL experiments lasted for 29 and 16 days, respectively, *i.e.* the time necessary to reach a steady-state concentration of DOC in the system. All the analyses performed on each sample during incubation are presented in **Figure 5 - 1**. A homogeneous 15 mL suspension was sampled from each experimental reactor. A small non-filtered aliquot of the sample was used to measure pH (uncertainty of  $\pm 0.01$  pH units) and specific conductivity ( $\pm 0.1 \mu\text{S cm}^{-1}$ ). The rest of the 15 mL sample was centrifuged at 4,500 g for 15 minutes and the supernatant was then filtered through a 0.45 µm filter (Minisart® syringe filter). In the experimental filtrates, the DOC was measured with a Shimadzu TOC-VSCN with an incertitude of 3%. The UV-absorbance of water samples at 254 nm was measured using a 10 mm quartz cuvette on a SpectroFlex spectrophotometer (series 6600 – WTW), as this wavelength has been defined as the best proxy for surface water DOC ([Edzwald et al., 1985](#); [Peacock et al., 2014](#)). In addition, the specific UV absorbance ( $\text{SUVA}_{254}$ ,  $\text{L mg C}^{-1} \text{m}^{-1}$ ) was used to assess the aromaticity of samples and the source of DOM. In the case of SFP experiment, additional analyses were conducted, such as organic acids and anions analyses, measured with a high-performance ion chromatography (Dionex ICS-5000+, analytical column: AS11-HC 4 µm).





**Figure 5 - 1 :** Schematics of frozen peat leachate (FPL; **A**) and solid frozen peat (SFP; **B**) leachate incubations with the various analyses performed on each sample.

### **c. Microbiological analyses**

To evaluate the number of living bacteria (CFU, cells mL<sup>-1</sup>) in both SFP and FPL experiments, 1 mL of non-filtrated aliquots were inoculated in nutrient agar (2.8%) after serial dilution. Inoculated agars were placed in the dark for 5 days before visual counting.

In the case of SFP experiment, at the beginning and at the end of incubation (29 days), a duplicate of 12 mL aliquot per experiment at each temperature was collected to analyse the functional diversity of the bacterial community, using an EcoPlates® (Biolog Inc, Hayward, CA). The list of tested substrates (31 in total) is provided in Supplementary information (**Tableau 5 - S 1**). Each well of the plate was inoculated with 130 μL of 1.2 μm-filtered (GF/C, Whatman) aliquot, and kept in the dark at 18 °C. After 5 days, the optical density of the plate at 590 nm was measured with a Synergy MX spectrophotometer (Biotek). The following calculated

parameters were used to assess the change of microbial activity (Gryta et al., 2014; Stefanowicz, 2006; Weber and Legge, 2009; Zak et al., 1994): the average well colour development (AWCD, Eq. 1a), the Shannon index of diversity (H, Eq. 1b) defining the richness of the microbial community and the Shannon index of evenness (E, Eq. 1c). In these equations, OD is the optical density of the well and  $p_i$  is the proportional colour development of the well “i” over the total colour development of all wells of the plate.

$$AWCD = \Sigma \frac{\text{mean}(OD_i - OD_{\text{blank}})}{31} \quad (1a)$$

$$H = - \Sigma p_i (\ln p_i) \quad (1b)$$

$$E = H/H_{\text{max}} \quad (1c)$$

#### **5.1.4.3 Transmission Electron Microscopy (TEM)**

The peat particles in the SFP experiment were observed before incubation and after 29 days of incubation (using the solid phase obtained after centrifugation of the 15 mL aliquots) with a JEOL JEM-1400 HC transmission electron microscope (TEM) equipped with a Gatan Orius SC1000B CCD camera and after negative staining. Ultrathin sections were prepared as follows: at first, the samples were fixed with a 2.5% glutaraldehyde / 2% paraformaldehyde in 0.1 M cacodylate buffer at ambient temperature for 2 h. The samples were then washed three times with the same cacodylate buffer and soaked during 1 h in 1% osmium tetroxide as a post-fixation step. The soaked samples were centrifuged for 5 minutes at 59 g, the supernatant was removed, and the samples were embedded in agarose. The consolidated samples were placed in Eppendorf cones and dehydrated in ascending ethanol series (25, 50, 70 and 90% for 15 minutes and three times in 100% for 30 minutes). There were then gradually infiltrated in epoxy resin (25, 50 and 75% for 1 h, and twice in 100% for 12 h) and polymerized at 60 °C for 48 h. 80 nm thick thin sections were cut from the resin-embedded samples with an ultramicrotome (Leica UCT), and placed on Formvar carbon-coated copper grids. Finally, the sections were stained with uranyl acetate and lead citrate.

#### **5.1.4.4 Treatment of experimental results and statistics**

In order to determine the concentration of biodegradable DOC (BDOC, Eq. 2) over incubation time for the FPL experiments, the equation proposed by Vonk et al. (2015a) was used:

$$\text{BDOC } (\%)_{t=x} = [(DOC_{t=0} - DOC_{t=x}) / DOC_{t=0}] \times 100\% \quad (2)$$

where “ $t$ ” is the incubation time in days. The apparent release (for SFP experiments) or removal (for FPL experiments) rate of DOC ( $R_{\text{DOC}}$ , **Eq. 3**) was calculated *via* the equation of a linear regression slope:

$$R_{\text{DOC}} (\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}) = \sum ((t_x - t_{\text{mean}})(DOC_{t=x} - DOC_{\text{mean}})) / \sum (t_x - t_{\text{mean}})^2 \quad (3)$$

where “ $t_x$ ” is the day of incubation at time “ $x$ ” and “ $t_{\text{mean}}$ ” is the mean of incubation time in days. In addition, the apparent activation energy ( $E_a$ , **Eq. 4**) was calculated from the Arrhenius equation (Arrhenius, 1889) using apparent rate of DOC release (in SFP experiments) or DOC removal (in FPL experiments) between temperatures (4 and 25 °C; 25 and 45 °C; and 4 and 45 °C) during the more active phase of DOC (*i.e.*, during the first 2 days of incubation):

$$E_a (\text{J mol}^{-1}) = [(R \times T_1 \times T_2) / (T_1 - T_2)] \times \ln(R_{\text{DOC}(T_1)} / R_{\text{DOC}(T_2)}) \quad (4)$$

where “ $R$ ” is the universal gas constant ( $R = 8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ), “ $T_1$ ” and “ $T_2$ ” are the incubation temperatures in Kelvin and “ $R_{\text{DOC}(T^{\circ}X^{\circ})}$ ” is the apparent release or removal rates of DOC at temperatures  $T_1$  and  $T_2$ .

Because the data were normally distributed, a statistical treatment, including the least square method for regression and the Pearson correlation, was used. A one-way ANOVA test was used to compare the trend in DOC and BDOC concentrations,  $R_{\text{DOC}}$  rate, SUVA<sub>254</sub>, CFU, H, E and AWCD index between *i*) two temperatures, *ii*) added heterotrophic bacteria and control run and *iii*) at the beginning and at the end of experiments and assessed *via* the corresponding  $p_{\text{values}}$  (**Tableau 5 - S2**). These treatments were performed under R software (version 3.5.2).

### 5.1.5 Results

The patterns of DOC and SUVA trend with time between 4 and 25 °C incubations in SFP and FPL experiments were insignificantly different ( $p_{\text{values}} > 0.05$ ; except for the SUVA<sub>254</sub> in SFP incubation). The FPL incubation results at 25 °C were not different than those at 45 °C (excepted for the BDOC,  $p_{\text{values}} = 0.00146$ ). However, the BDOC showed only slight differences between 4 and 25 °C (**Tableau 5 - S2**).

### 5.1.5.1 DOC behaviour

The changes in DOC concentrations in the SFP experiments over time exhibited similar trends at 4 and 25 °C with and without addition of *Iodobacter* sp.: after an initial increase by a factor of 2 to 5, from day 0 to day 12, the DOC concentration remained stable after 12 days (**Figure 5 - 2A and B**). In contrast, at 45°C, the DOC concentrations increased from  $18.2 \pm 2.4$  at day 0 to  $140.8 \pm 1.9$  mg L<sup>-1</sup> at the last day of incubation in the SFP experiment with added heterotrophic bacteria, and from  $11.9 \pm 0.5$  to  $118.1 \pm 3.9$  mg L<sup>-1</sup> in the control experiment (**Figure 5 - 2C**). The apparent rate of DOC release in SFP experiments decreased with incubation time for all temperatures, with or without added heterotrophic bacteria (**Tableau 5 - 1**). For the 45 °C incubations, the  $R_{DOC}$  between day 0 and 2 decreased from  $17.7 \pm 1.5$  to  $3.6 \pm 0.12$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> in the presence of *Iodobacter* sp. and from  $18.4 \pm 0.66$  to  $3.2 \pm 0.09$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> in the control experiment. Between 0 and 2 days of incubation at 4 °C, the apparent release rate of DOC was lower in *Iodobacter* sp. experiment compared to the controls ( $3.22 \pm 0.79$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> versus  $6.25 \pm 1.25$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). The trend of SUVA<sub>254</sub> over time in SFP incubations showed an initial increase followed by a stabilization after 2 days of exposure at all temperatures (around  $5.0 \pm 1.0$  L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>), both for added heterotrophic bacteria and control experiments (**Figure 5 - 3A**). The highest SUVA<sub>254</sub> value was observed at 25 °C at day 21 ( $6.4 \pm 0.2$  L mg C<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>).

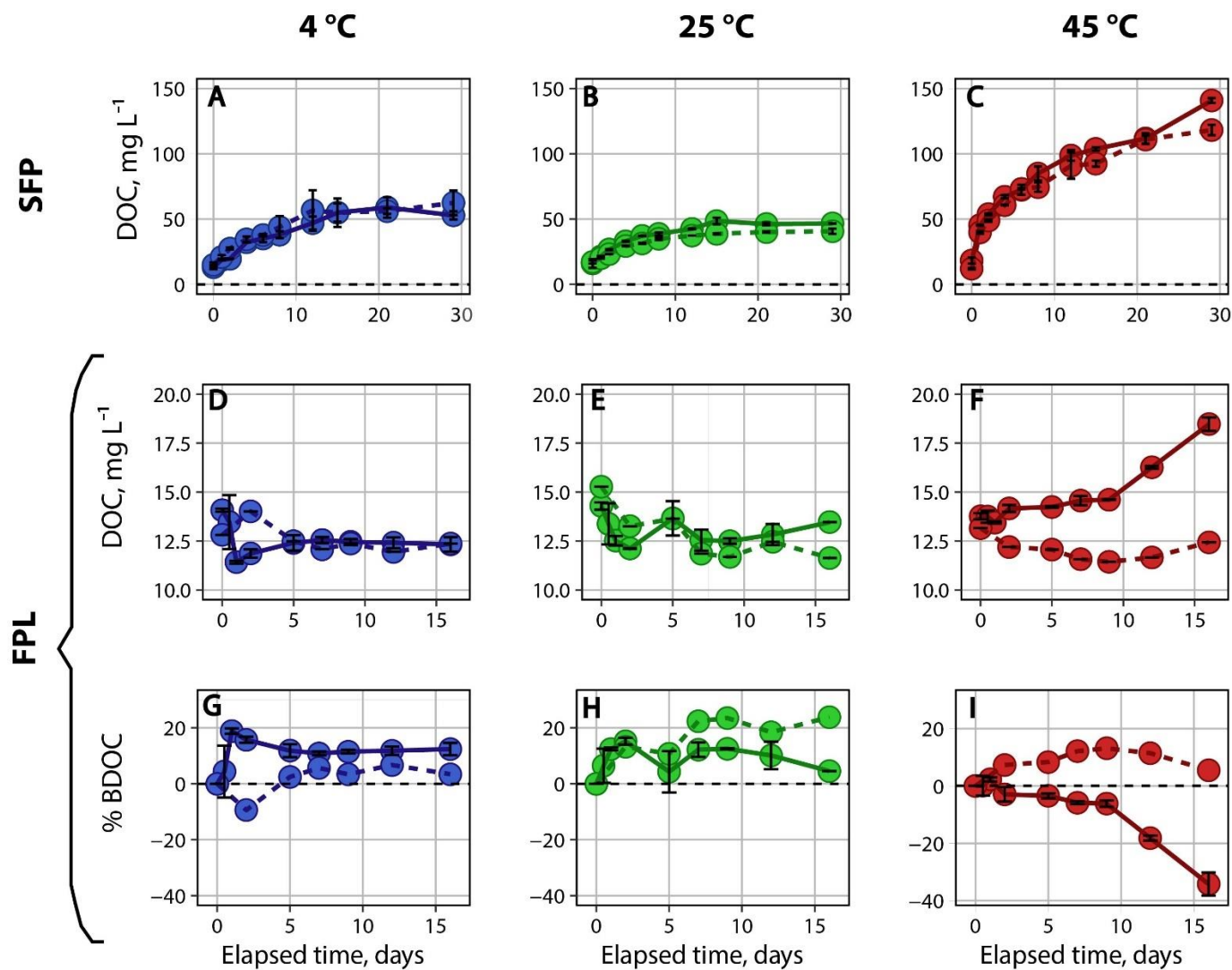
The temporal change of DOC in the FPL experiments was characterised by an approximately 2 mg L<sup>-1</sup> decrease over the first 2 days, followed by a stabilization around 12 mg L<sup>-1</sup> between day 2 to 16 in both added heterotrophic bacteria and control experiments at 4 and 25 °C (**Figure 5 - 2D and E**). In the case of the 45 °C FPL experiment with added *Iodobacter* sp., the DOC increased after 10 days of incubation from  $13.7 \pm 0.16$  to  $18.5 \pm 0.34$  mg L<sup>-1</sup> (**Figure 5 - 2F**). In general, the BDOC was higher for control experiments than in the presence of *Iodobacter* sp. for the 25 and 45 °C incubations (**Figure 5 - 2H and I**), but the opposite trend was observed at 4 °C of incubation (**Figure 5 - 2G**). The BDOC at 4 and 25 °C sharply increased between days 0 and 2 (*ca.* 10-18%), then slightly decreased until day 5 and remained stable and positive until the last day of incubation. The incubations at 45 °C exhibited two clearly different patterns (**Figure 5 - 2I**). While BDOC of control experiment was always positive and showed a 13% increase in values until day 9, followed by a 5.5% decrease between day 9 to 16, the added heterotrophic bacteria experiment showed negatives values (corresponding to DOC production/release) from day 0 to 16 with a 5-fold drop after day 9. The apparent rate of

DOC removal in FPL incubations (**Tableau 5 - 1**) increased with incubation time at 4 and 25 °C without any significant difference between the two temperatures ( $p_{\text{values}} = 0.497$ , **Tableau 5 - S2**). However, at 45 °C with added *Iodobacter* sp. there was a release rather than a removal of DOC in contrast with the control experiment at 45 °C, which revealed a net removal of DOC. The SUVA<sub>254</sub> trend in FPL experiments did not exhibit any clear trend with time, and the differences between added heterotrophic bacteria and control experiments, and between different temperatures, were not significant (**Figure 5 - 3B**).

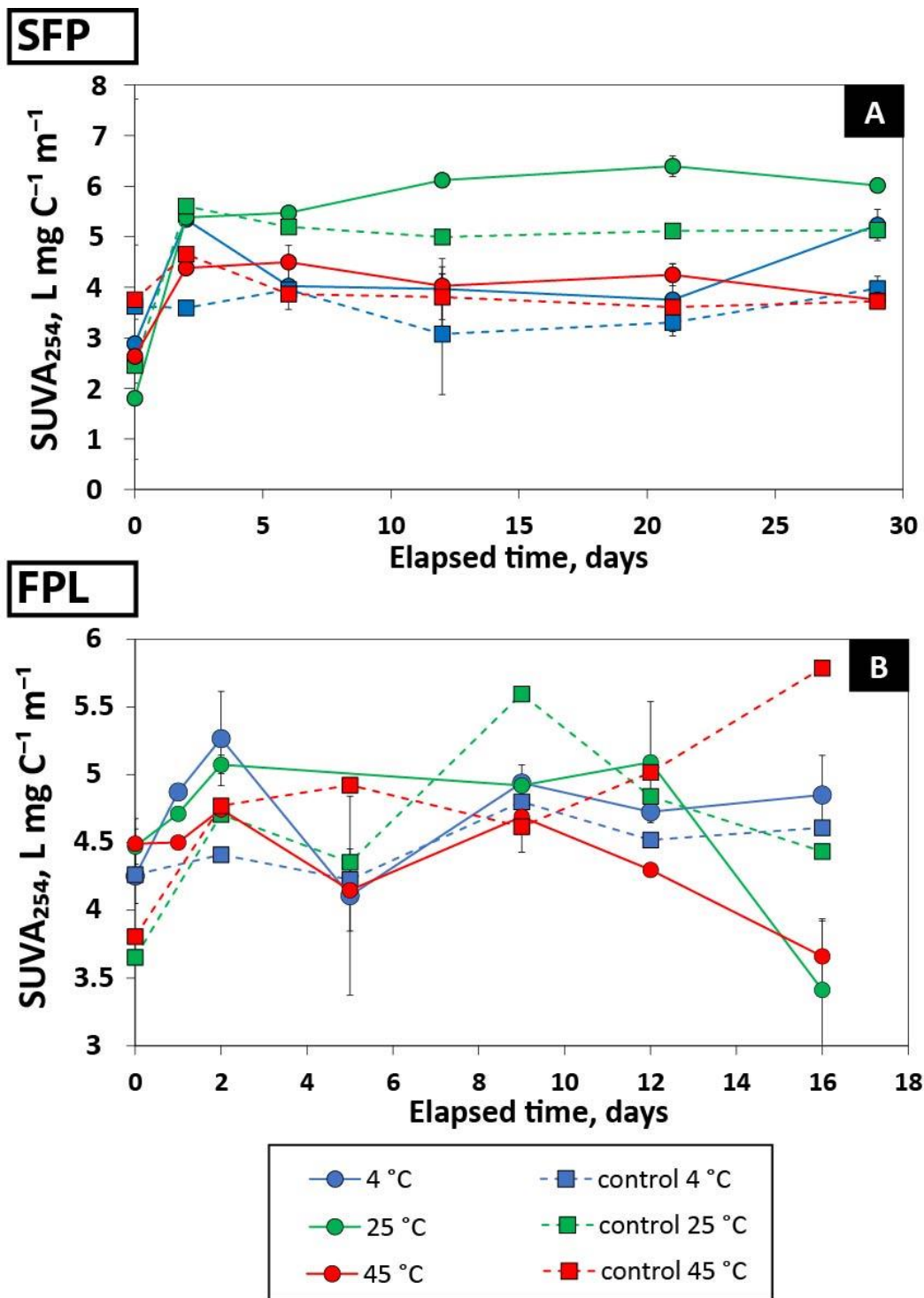
Apparent activation energies ( $E_a$ ) of DOC release in the SFP incubations ( $R_{\text{DOC}}$ ; **Tableau 5 - S3**) between 4 and 25 °C for the first two days of exposure showed a positive value with added heterotrophic bacteria ( $E_{a_{\text{added\_bacteria}(4-25)}} = 15.17 \pm 3.9 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) and a negative value in the control ( $E_{a_{\text{control}(4-25)}} = -23.98 \pm 0.5 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). The  $E_a$  was positive between 25 and 45 °C ( $E_{a_{\text{added\_bacteria}(25-45)}} = 50.56 \pm 18.1 \text{ kJ mol}^{-1}$  but higher for the control  $E_{a_{\text{control}(25-45)}} = 72.56 \pm 6.1 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). In the case of FPL incubations, the activation energy of DOC removal between 4 and 25 °C was low and negative in the added heterotrophic bacteria incubation ( $E_{a_{\text{added\_bacteria}(4-25)}} = -4.23 \pm 12.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).

**Tableau 5 - 1** :  $R_{\text{DOC}}$ : apparent release rate of DOC ( $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) for solid frozen peat (SFP) and apparent removal rate of DOC for frozen peat leachate (FPL) incubations, with and without added heterotrophic bacteria (control) at 4, 25 and 45 °C.

	SFP incubations					
	4 °C		25 °C		45 °C	
	added bacteria	control	added bacteria	control	added bacteria	control
day 0 to 2	3.22 ±0.79	6.25 ±1.25	5.28 ±1.87	3.01 ±0.56	17.74 ±1.53	18.41 ±0.66
day 0 to 6	3.82 ±0.56	3.78 ±0.33	3.47 ±0.38	2.47 ±0.1	8.11 ±0.25	9.05 ±0.1
day 0 to 12	2.78 ±0.49	3.26 ±1.29	2.14 ±0.2	1.71 ±0.03	5.88 ±0.4	5.68 ±0.53
day 0 to 29	1.51 ±0.23	1.56 ±0.33	0.98 ±0.07	0.78 ±0.06	3.57 ±0.12	3.18 ±0.09
	FPL incubations					
	4 °C		25 °C		45 °C	
	added bacteria	control	added bacteria	control	added bacteria	control
day 0 to 2	-1.18 ±0.16	0.6	-1.06 ±0.24	-1.01	0.19 ±0.1	-0.48
day 0 to 5	-0.22 ±0.02	-0.08	-0.25 ±0.29	-0.29	0.12 ±0.01	-0.2
day 0 to 12	-0.04 ±0.02	-0.12	-0.05 ±0.06	-0.23	0.17 ±0.01	-0.12
day 0 to 16	-0.03 ±0.01	-0.07	-0.04 ±0.07	-0.19	-0.26 ±0.01	-0.04



**Figure 5 - 2:** Dissolved Organic Carbon (DOC) of solid frozen peat (SFP, A, B and C) and frozen peat leachate (FPL, D, E and F), Biodegradable Dissolved Organic Carbon (% BDOC) of FPL (G, H and I) over incubation time at 4 °C (A, D and G), 25 °C (B, E and H) and 45 °C (C, F and I). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines). Note that the SFP and FPL experiments did not last the same duration. Most of the error bars are smaller than the symbol size. The negative BDOC in FPL experiments at 45 °C might be due to bacterial cell lysis and DOM production (see *partie 5.1.6.1-b*)



**Figure 5 - 3 :** Temporal evolution of SUVA<sub>254</sub> during incubation of solid frozen peat (SFP; A) and frozen peat leachate (FPL; B). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines).

### **5.1.5.2 Organic acids and inorganic anions behaviour in SFP incubations**

Among the measured anion (phosphate) and organic acids (acetate, formate, malate, oxalate and tartrate), only the phosphate concentration in the experiment with added *Iodobacter* sp. (**Tableau 5 - 2**) showed a significant increase in concentration over the time of incubation, following the order  $45\text{ }^{\circ}\text{C} \geq 25\text{ }^{\circ}\text{C} > 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The increase of  $\text{PO}_4^{3-}$  concentration from 0 to the 29<sup>th</sup> day of incubation was equal to  $2.38 \times 10^{-2}$ ,  $2.24 \times 10^{-2}$  and  $8.65 \times 10^{-3}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  at 45, 25 and 4°C, respectively. In contrast, the control experiment only revealed a slight decrease of phosphate concentration over incubation time at all temperatures ( $-1.27 \times 10^{-3}$ ,  $-1.32 \times 10^{-4}$  and  $-7.04 \times 10^{-4}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  at 4 °C, 25 °C and 45 °C, respectively).

Among the organic acids, only acetate exhibited a significant decrease in the control experiment ( $-4.89 \times 10^{-3}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  over 29 days of incubation at 4 °C), and a slight increase in the added *Iodobacter* sp. experiment ( $2.39 \times 10^{-4}$ ,  $3.19 \times 10^{-3}$  and  $1.42 \times 10^{-3}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  at 4, 25 and 45 °C). The oxalate increased by  $1.22 \times 10^{-2}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  at 45 °C in the added heterotrophic bacteria experiment. Formate, malate and tartrate did not exhibit any significant variation over the 29 days of incubations at all temperatures, and the changes of their concentrations did not generally exceed  $10^{-3}$   $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$  (0.05  $\text{mg L}^{-1}$  from day 0 to day 29) which was less than 0.1% of the overall DOC level.

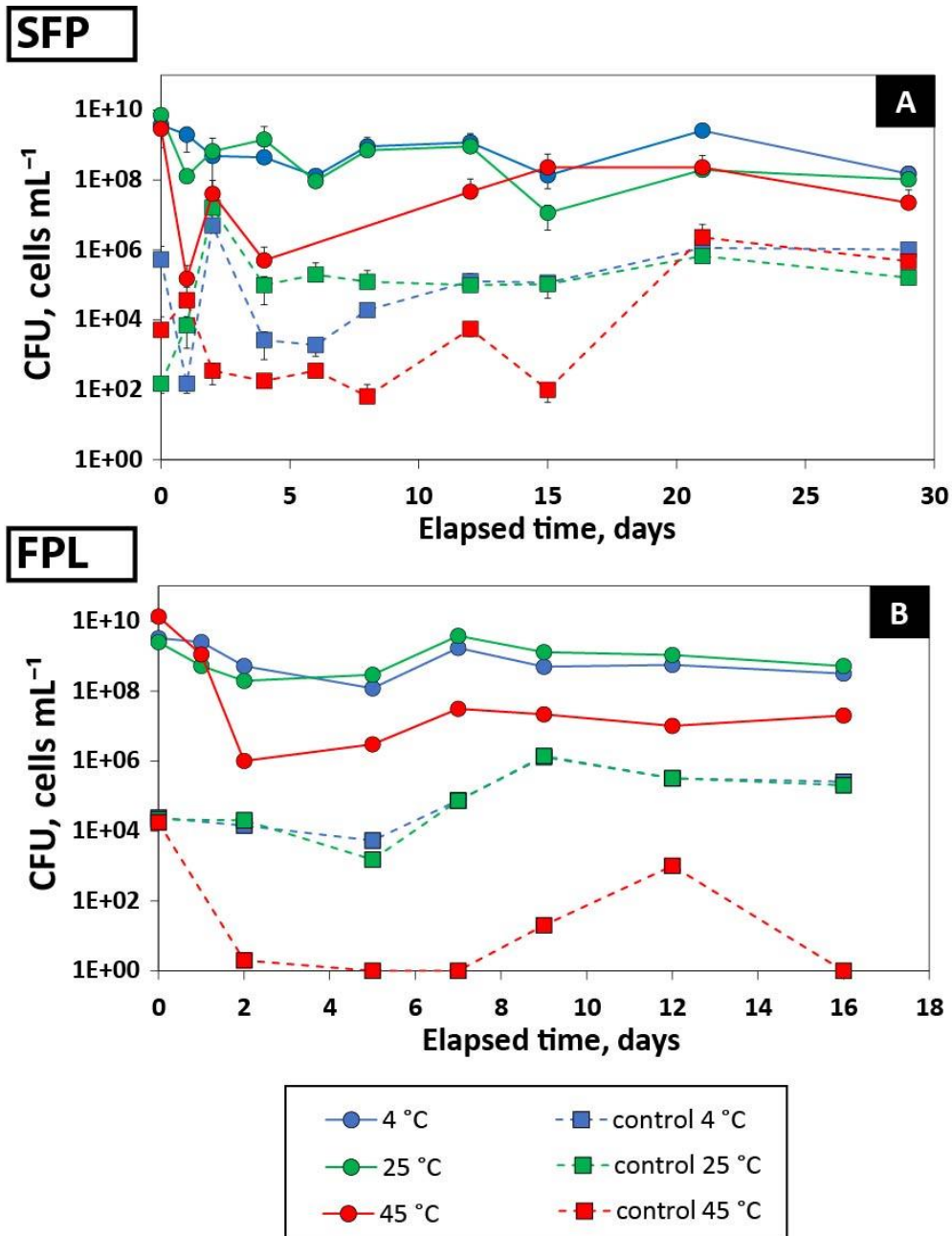
### **5.1.5.3 Bacterial cell number and Ecoplate analyses of microbial functional diversity in the SFP incubations**

The live cell number in SFP (**Figure 5 - 4A**) and FPL (**Figure 5 - 4B**) experiments remained stable during incubations (around  $10^9$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  with added *Iodobacter* sp. and  $10^5$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  in the control). For experiments at 45 °C, the bacterial number drastically decreased between 0 to 2 days in SFP and FPL incubations, losing almost half of the initial cell number in both types of incubations. The incubation at 45 °C with SFP had CFU values comparable with those at 4 and 25 °C from day 20 to day 29. In contrast, the CFU values of FPL incubations at 45 °C were always an order of magnitude lower than those at 4 and 25 °C.



**Tableau 5 - 2 :** Ecoplate (AWCD, H and E), Anions and Organic acids analysis contents in solid frozen peat (SFP) incubations (control and with added heterotrophic bacteria) at the beginning and at the end of the experiments (day 0 and 29) and evolution rate of anions and organic acids concentration between day 0 and day 29.

	Incubation time (days)		0			29			
	Temperature (°C)		4	25	45	4	25	45	
<b>Control</b>	Ecoplate	AWCD	1.044	1.044	1.044	0.061	0.085	0.093	
		Shannon richness index (H)	268.5 ±35.2	268.5 ±35.2	268.5 ±35.2	14.4 ±3	19.6 ±7.1	18.9 ±4.1	
		Shannon evenness index (E)	20.7 ±1.3	20.7 ±1.3	20.7 ±1.3	14.3 ±1.6	11.1 ±2	9 ±3.4	
	Anions and Organic acids	Concentration (mg L <sup>-1</sup> )	Phosphate (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	0.095	0.016	0.11	0.032	0.009	0.029
			Acetate	0.52	0.014	0.027	0.092	0.055	0.09
			Formate	0.035	0.034	0.008	0.048	0.009	0.018
			Malate	0.035	0.011	0.015	0.028	0.006	0.009
			Tartrate	0.018	0.017	0.018	0.072	0.017	0.019
			Oxalate	0.045	0.015	0.016	0.096	0.017	0.035
	Anions and Organic acids	Rate between day 0 and day 29 (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Temperature (°C)		4		25		45
Phosphate (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )			-1.27x10 <sup>-03</sup>		-1.32x10 <sup>-04</sup>		-7.04x10 <sup>-04</sup>		
Acetate			-4.89x10 <sup>-03</sup>		-1.29x10 <sup>-02</sup>		8.93x10 <sup>-04</sup>		
Formate			6.28x10 <sup>-04</sup>		-4.55x10 <sup>-04</sup>		2.43x10 <sup>-04</sup>		
Malate			2.16x10 <sup>-05</sup>		3.59x10 <sup>-05</sup>		8.64x10 <sup>-05</sup>		
Tartrate			1.53x10 <sup>-03</sup>		0		4.53x10 <sup>-05</sup>		
Oxalate	1.66x10 <sup>-03</sup>		2.30x10 <sup>-04</sup>		-7.82x10 <sup>-04</sup>				
<b>Added heterotrophic bacteria</b>	Incubation time (days)		0			29			
	Temperature (°C)		4	25	45	4	25	45	
	Ecoplate	AWCD	0.35	0.284	0.361	0.08	0.095	0.03	
		Shannon richness index (H)	80 ±4	64.5 ±3.7	85.6 ±8.2	17.4 ±4.3	20.3 ±5.4	7.1 ±4.4	
		Shannon evenness index (E)	12.6 ±0.8	12.5 ±0.7	13.5 ±0.7	13.2 ±2.7	12.2 ±4.3	6.6 ±5.4	
	Anions and Organic acids	Concentration (mg L <sup>-1</sup> )	Phosphate (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	0.061	0.066	0.11	0.334	0.643	1.302
			Acetate	0.017	0.012	0.027	0.05	0.082	0.099
			Formate	0.057	0.007	0.008	0.011	0.01	0.013
			Malate	0.012	0.008	0.015	0.008	0.006	0.009
			Tartrate	0.018	0.017	0.018	0.017	0.017	0.021
Oxalate			0.014	0.013	0.016	0.015	0.017	0.421	
Anions and Organic acids	Rate between day 0 and day 29 (mg L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Temperature (°C)		4		25		45	
		Phosphate (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	8.65x10 <sup>-03</sup>		2.24x10 <sup>-02</sup>		2.38x10 <sup>-02</sup>		
		Acetate	2.39x10 <sup>-04</sup>		3.19x10 <sup>-03</sup>		1.42x10 <sup>-03</sup>		
		Formate	-7.70x10 <sup>-04</sup>		9.37x10 <sup>-04</sup>		4.01x10 <sup>-04</sup>		
		Malate	-5.47x10 <sup>-05</sup>		1.90x10 <sup>-04</sup>		-5.49x10 <sup>-05</sup>		
		Tartrate	-3.81x10 <sup>-06</sup>		9.21x10 <sup>-04</sup>		1.25x10 <sup>-04</sup>		
Oxalate	8.99x10 <sup>-05</sup>		7.13x10 <sup>-04</sup>		1.22x10 <sup>-02</sup>				



**Figure 5 - 4 :** Temporal evolution of CFU (log scale) during incubation of solid frozen peat (SFP; A) and frozen peat leachate (FPL; B). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines).

The AWCD parameter, reflecting the heterotrophic microbial diversity, was three times higher at the beginning of incubation in control experiments compared with added *Iodobacter* sp. experiments for all incubation temperatures ( $p_{\text{value}} < 0.001$ , **Tableau 5 - 2** and **Tableau 5 - S2**). At the end of incubations (day 29), the AWCD with added *Iodobacter* sp. and control experiments were similar ( $p = 0.632$ , **Tableau 5 - S2**) for the three temperatures. A net decrease in richness (H) and evenness (E) of metabolic diversity was also detected for both

control and added *Iodobacter* sp. experiments at all temperatures, except for the E index with added *Iodobacter* sp. at 4 and 25 °C (Tableau 5 - 2).

Ecoplate analyses also revealed a drastic decrease (*i.e.* ≥ 70%) of community richness, over 29 days of incubation for each type of consumed substrate (polymers, carbohydrates, amino acids, amines/amides and carboxylic acids, Figure 5 - 5). In control experiments, the decrease of each substrate richness was greater than 90% (hatched columns in Figure 5 - 5), while for added *Iodobacter* sp. experiments, the decrease was between 70 and 80% at 4 and 25 °C and over 90% at 45 °C. Furthermore, for all types of incubations and at all temperatures, the polymers, carbohydrates, amino acids, and carboxylic acids were mostly consumed at the beginning of experiments, while at the end of experiments, only polymers and carbohydrates were used by the microbial community.

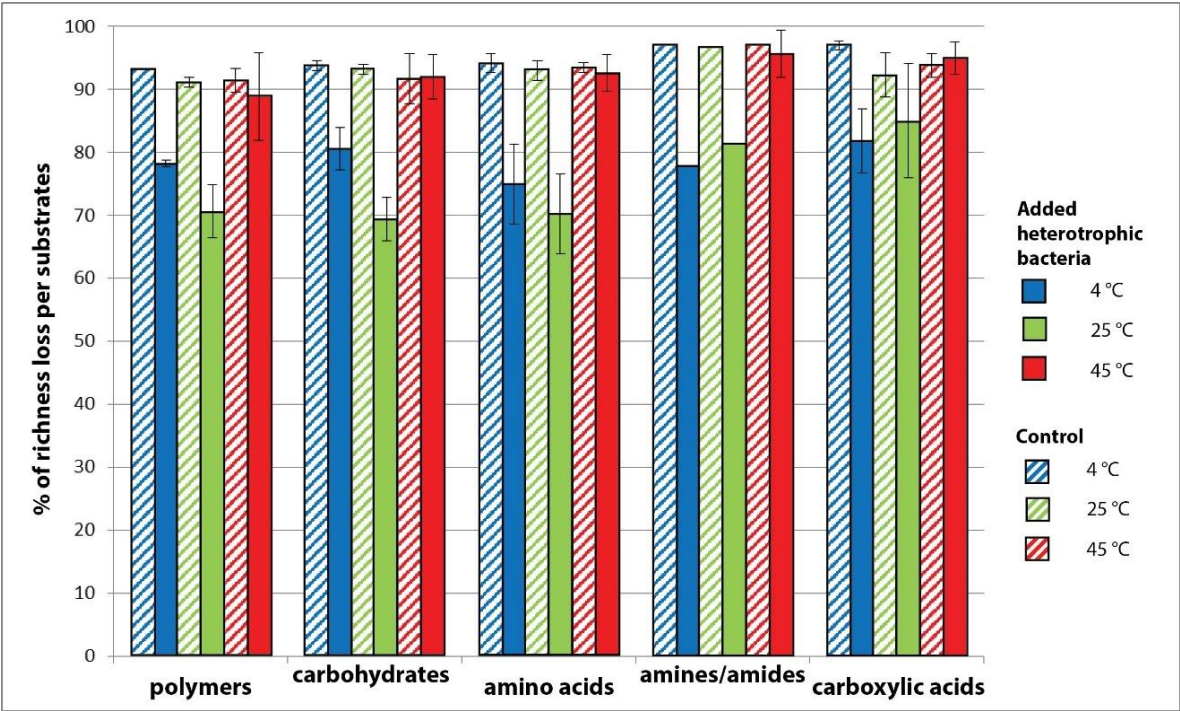


Figure 5 - 5 : Percentage of richness (H) loss in solid frozen peat (SFP) experiment between day 0 and day 29 of incubation for each type of consumed substrates (hatched columns = controls, fill columns = with added heterotrophic bacteria, blue columns at 4 °C, green at 25 °C and red at 45 °C incubations).

5.1.5.4 TEM observations of incubated peat

The TEM observations of peat at the beginning of the SFP experiments revealed a compact and complex material in which the original structures of the flora composing the peat are partially erased (Figure 5 - 6A). However, some parts of the peat material still contain

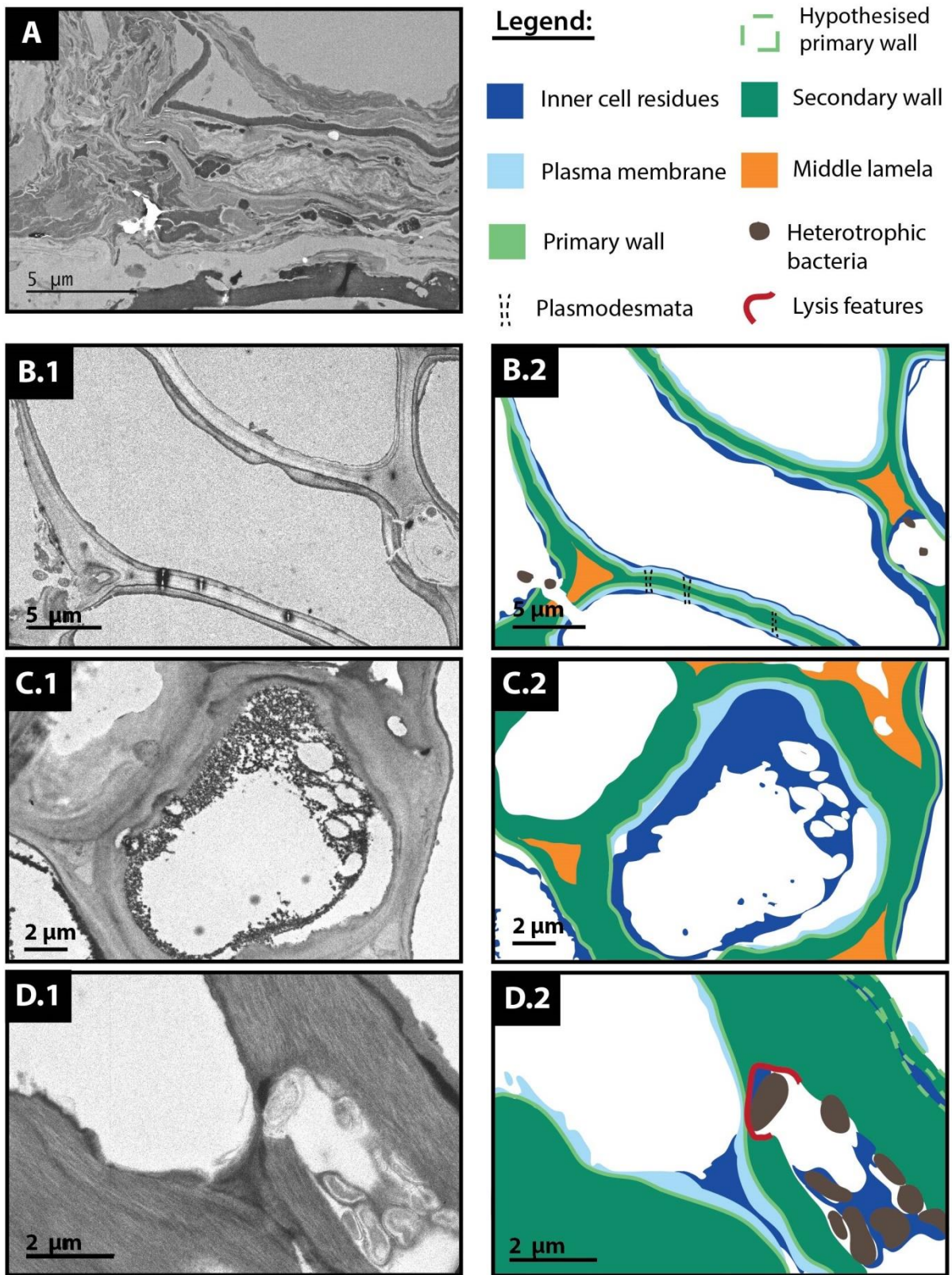
recognizable organelles such as the primary and secondary walls of vegetative cells, medium lamella, plasma membrane, inner cells residues and plasmodesmata, as illustrated in **Figure 5 - 6B.1, C.1 and D.1** and schematically outlined in **Figure 5 - 6B.2, C.2 and D.2**. Cell walls seem to be well preserved figuring the double-wall configuration and sometimes even the plasma membrane (**Figure 5 - 6B, C and D**), which appears as light matter under TEM. The cells of microorganisms were essentially observed near the inner part of the plant cells (**Figure 5 - 6B, D and C**).

The TEM observations of peat incubated during 29 days showed that the inner part of the cells at 4 and 25 °C were substantially degraded compared with those after a 45 °C incubation (**Figure 5 - S 1**). Such change between different temperatures was detected for both added *Iodobacter* sp. experiments and their respective controls. The secondary walls seem to have been partially biodegraded, as it is demonstrated by lysis features of the walls in experiments with added *Iodobacter* sp. at 4 and 25 °C (**Figure 5 - 6D**). It is worth noting that the number of living bacterial cells (CFU, cells mL<sup>-1</sup>) was lower in experiments at 45 °C compared with those carried out at 4 and 25 °C (**Figure 5 - 4A**). Unfortunately, comparisons between incubations at different temperatures (*i.e.*, assessment of the degree of the inner cell degradation and of the cell abundance) could not be statistically confirmed, first, because of an insufficient number of observations, and then, because spots of observation were too small to provide an appropriate representation of the intrinsic heterogeneity of the frozen peat.

## **5.1.6 Discussion**

### **5.1.6.1 DOC trend during peat leaching and biodegradation**

We hypothesised that the change of DOM through time in SFP incubation will be driven by (1) its release in solution from the peat and (2) its consumption by the microbial community. The release and the consumption of dissolved organic matter can be followed by the DOC trend in SFP incubations (**Figure 5 - 2A, B and C**). In contrast, in FPL incubation (filtered substrates), we hypothesised that in the absence of particulate OM (POM), only biodegradation occurs and no DOM could be released (at the exception of lysis of microbial cells). In FPL experiment, the consumption of DOC (**Figure 5 - 2D, E and F**) can be followed by the BDOC trend (**Figure 5 - 2G, H and I**).



**Figure 5 - 6 :** TEM images of solid frozen peat (SFP) before incubation (A) and TEM images (B.1, C.1 and D.1) of SFP after 29 days of incubation at 25 °C (left panels). The right panels (B.2, C.2 and D.2) represent schematic interpretations of TEM images.

### ***a. DOC release from frozen peat at different temperatures***

The impact of temperature on the permafrost soil OM degradation has been intensively investigated, both in field soil heating experiments (Eliasson et al., 2005; Hartley et al., 2007; Melillo et al., 2002) and in laboratory incubations (Bracho et al., 2016; McKenzie et al., 1998). However, no strict consensus has been reached about the temperature control on soil OM degradation and significant controversies persist as discussed below.

In this work, no significant difference could be detected between 4 and 25 °C experiments in DOC concentration over time (**Figure 5 - 2A and B**,  $p_{value} : 0.199$ ) and the apparent release rate of DOC ( $R_{DOC}$ ) (**Tableau 5 - 1**,  $p_{value} : 0.302$ ). We then conclude, that under experimental conditions of this work, the temperature rise from 4 to 25 °C was not a key factor controlling OM release from peat of North-Eastern European Tundra. This is in agreement with results of Alaskan soil incubation in water (139 g soil + 500 mL water) by Reyes and Lougheed (2015), who demonstrated that the release of DOC and macronutrients (such as P,  $NO_3^-$ ) were not affected by temperature changes from 7 to 17 °C for the active soil layer but were affected in the case of permafrost soils. The same observations were made using anaerobic incubations, by Heslop et al. (2019) who demonstrated that the permafrost thaw affects the methanogen community composition and the temperature sensitivity of  $CH_4$  production thus highlighting the higher temperature sensitivity of recently-thawed permafrost and seasonally-thawed active layer. Our observations also corroborate those of Ernakovich and Wallenstein (2015) who conducted experiments at 1, 10 and 20 °C and observed that the amount of OM used by microbes at these 3 temperatures were the same. Moreover, some studies even noticed an increase in the decomposition rate of OM at lower temperatures (Del Grosso et al., 2005; Kirschbaum, 1995; Lloyd and Taylor, 1994). At the same time, a number of studies on permafrost peat biodegradation demonstrated an increase of OM decomposition with increasing temperature (Davidson and Janssens, 2006; Dioumaeva et al., 2002; Eliasson et al., 2005; Friedlingstein et al., 2006; Hartley et al., 2007; Melillo et al., 2002; O'Donnell et al., 2016). For example, a 30 days incubation of moss and peat have shown that the increase of temperature from 5 to 20 °C increased the C release (DOC production) by 20 to 135% (O'Donnell et al., 2016). A similar pattern was observed in our incubations (i.e., a 3-fold increase in DOC concentration (**Figure 5 - 2C**) and  $R_{DOC}$  values (**Tableau 5 - 1**) at 45 °C compared to those at 4 and 25 °C). However, rare incubations studies were conducted at such high temperatures (Shirokova et al., 2017b), limiting a possible comparison between the data. Note

that the decomposition of recalcitrant soil organic matter exhibits a higher temperature sensitivity (Conant et al., 2008), which could explain the difference between the observed release rate of DOC at 4 and 25 °C compared with those at 45 °C. It is thus possible that the frozen peat used in our study releases only labile OC at 4 and 25 °C and that the excess of DOC observed at 45 °C corresponds to the recalcitrant OM of peat. It should be further noted that in our study, the substrate-normalized DOC yields of frozen peat (~ 5 mg g<sup>-1</sup> peat) were substantially higher than the values obtained for organic soil samples of Alaska (0.14-2.2 mg g<sup>-1</sup> of soil, Gao et al., 2018).

### ***b. DOC removal during biodegradation of peat leachate***

A former study of frozen peat leachate with the addition of *Iodobacter* sp. revealed no significant decrease of DOC at 4 °C but a slight decrease at 25 °C (Shirokova et al., 2017b). Oleinikova et al. (2018) reported a decrease in DOC concentration by 5 ±3% over the first 96 hours of incubation at 25 °C in a peat leachate. In contrast, the BDOC obtained in this study ranged between 15 to 20% after 2 days of incubation at 4 and 25 °C. These values are somewhat higher than the field incubation values of BDOC along the hydrological continuum of frozen peatlands (0 to 10%, Shirokova et al., 2019) but in agreement with those obtained for Arctic riverine BDOC (10 to 40%, Holmes et al., 2008; Mann et al., 2012; Wickland et al., 2012). They are also consistent with the 10-40% range obtained for BDOC from the thawing and collapsing permafrost experiment of Abbott et al. (2014), as well as with values of the microbial utilisation of DOC in streams (3-11%) and in vegetation leachates (66%) of a 28 days incubations conducted at 20 °C (Textor et al., 2019). In the case of incubation at 45 °C with added heterotrophic bacteria, we obtained negative BDOC values (Figure 5 - 2I) which was not expected considering that the biodegradation was run in previously filtered solutions containing no particulate organic carbon. We hypothesize that some lysis of bacterial cells at these conditions may be responsible for additional DOM production and apparently 'negative' BDOC values.

In our study, the biodegradation was followed for 16 days and showed stabilisation of both DOC concentration (Figure 5 - 2) and DOC removal (Tableau 5 - 1) between days 5 and 12 for the 4 and 25 °C experiments. This relatively short period appeared to be sufficient for the heterotrophic bacteria to remove the labile C by respiration (Moran and Hodson, 1990; Søndergaard and Middelboe, 1995). Consequently, the remaining C in FPL incubations

(approximately 12 mg L<sup>-1</sup>) represents the refractory C pool of the DOC. Although we hypothesised no release of DOC in FPL experiments, some studies have shown a bacterial contribution to DOC concentration in waters (30-50% in 0.7 µm filtrated freshwaters incubated at 20 °C) and have highlighted the resistance of this bacterially-derived organic matter to the microbial degradation (Kawasaki et al., 2013). To a lesser extent, because of a smaller filtration pore size used in our study (*i.e.* 0.45 µm), the 12 mg L<sup>-1</sup> of C remaining can also be partially composed of this bacterially-derived organic matter. The  $R_{\text{DOC}}$  measured in this study in FPL experiments at 4 °C during the first two days of incubations ( $-1.18 \pm 0.16$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>; **Tableau 5 - 1**) is comparable with the values assessed in subarctic permafrost mire complex for the same incubation time (2 days) at 3 °C for the active layer where the consumption of DOC is about  $1.75 \pm 0.79$  mg L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (Roehm et al., 2009). Furthermore, we did not detect any change in the apparent rate of DOC removal between 4 and 25 °C over this short incubation period which corroborates the former finding on very weak impact of temperature on labile C pool (Biasi et al., 2005; Bracho et al., 2016; Conant et al., 2008b; Hartley and Ineson, 2008).

#### ***5.1.6.2 Heterotrophic bacteria functional diversity, microbial cell number and organic acids in the presence of frozen peat and frozen peat leachate***

Consistent with the negligible impact of temperature on both DOC release from peat and DOC removal in peat leachate, the number of viable bacteria was similar at 4 and 25 °C ( $10 \pm 1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>). This refutes the possibility of variance in the biodegradation rate as a function of temperature due to a difference in microbial cell numbers. In addition, the non-significant variations of richness (H), evenness (E) and AWCD indices between 4 and 25 °C incubations with SFP suggest a comparable metabolic activity of the microbial community at low and medium temperature. It indicates a quite high degradation rate of frozen peat from freshly thawed permafrost at 4 °C. This is contradictory to the hypothesis that the active microbial community at low temperature needs a few growing seasons to reach the degradation level of a warmer community after the first thaw of permafrost (Ernakovich and Wallenstein, 2015). Furthermore, the lower values of AWCD, H and E indexes at 45 °C incubation compared with those at 4 and 25 °C are in agreement with observations made by Steinweg et al. (2008) showing that the microbial carbon use efficiency declined at the warmest temperatures.



The exact reasons of this unusual temperature impact on microbial processing of DOC are unknown. Although the functional diversity of the microbial community was not affected by temperature, it is still possible that the community structure changed with temperature. Indeed, as it was shown for plant communities of peatlands, the taxonomic adaptation to climate change is not coupled with the functional diversity of community (Robroek et al., 2017). Further, Vigneron et al. (2019) have shown a drastic difference in the microbial community of thermokarst lake between summer and winter driven by the change in redox environment. It follows that further metagenomic analyses of the microbial community structure are necessary to elucidate the mechanisms driving the temperature impact on biodegradation of DOM.

Ecoplate analyses indicate that the AWCD as well as the Shannon index of richness and evenness (H and E) decrease over incubation time (except for E with added *Iodobacter* sp. experiment), reflecting a decrease of heterotrophic metabolic diversity, *i.e.*, consumption of various nutritive resources by microorganisms. Soil DOM released from aged permafrost is known to contain a high proportion of biologically-labile protein-like substances (Gao et al., 2018). At the end of our experiment, carbohydrates and polymers were essentially consumed by microbial community (approximately 25 to 30%, respectively, of the total C used), which in the case of carbohydrates is slightly higher than the rate obtain by Boddy et al. (2008) on the respiration of glucose and amino acids (< 25% of the total respiration). This difference can be attributed to a larger microbial diversity of the frozen peat substrate used in the present study. Our peat sample originated just below the active layer, adjacent to the high bacterial metabolism zone (Morgalev et al., 2017), whereas the one used by Boddy et al. (2008) was a topsoil sample (10 cm depth). This result suggests that the downward migration of the thawing front will intensify and diversify, on a short-term scale, the microbial activity of frozen peatlands. The higher metabolic capacity of this interface thus reflects a higher C mineralization potential by bacteria.

The frozen peat from the Bolshezemelskaya Tundra (BZT) released a relatively low amount of carboxylic acids and the DOC was generally refractory. This contrasted with the behaviour of ancient organic carbon from the Yedoma soils, in which about 53% of DOC was consumed over 200 h of incubation, with 87% of microbially consumed DOC being derived from acetate and butyrate respiration (Drake et al., 2015). Low concentrations of acetate (< 2  $\mu$ M) were

reached in aqueous fluids that interacted with peat in the SFP experiments of the present study. These values are much lower than those reported in Yedoma permafrost cores from central Alaska, where acetate C accounted for 24% of DOC and ranged from 0.38 to 30 mM (Ewing et al., 2015). This difference can be explained by the enrichment in acetate of the Yedoma samples under anoxic conditions (acetogenesis) in contrast to already partially processed peat used in this study (that still contained some labile C but very low acetate concentration) and that was incubated under oxygenated conditions.

### ***5.1.6.3 Microscopic morphological features of reacted peat***

#### ***a. General structure of peat***

Until now, the TEM observations of frozen peat biodegradation have remained very limited and the majority of microscopic studies have been devoted to the characterisation of moss degradation (Tsuneda et al., 2001). Former scanning electron microscopy (SEM) observations reported similar well-defined features (plant cell walls and membranes) for the south Australian peat (Dart et al., 1969), although we observed a slightly more compact aspect of the frozen peat from Bolshezemelskaya Tundra (Figure 5 - 6A). Such a compact structure of frozen peat from BZT is consistent with a general trend of decreasing the peat porosity and pore size with increasing depth (Price and Schlotzhauer, 1999; Rezanezhad et al., 2016).

The cell wall like fragments, identified in a previous study (Dart et al., 1969) can be compared to primary and secondary cell walls evidenced in this work (Figure 5 - 6B, C and D). The inner cell residues which appear dark under TEM because of strong heavy metal staining are identified as the inner part cells residues (Figure 5 - 6C, B and D). Most of those inner cell residues seem to have undergone intense degradation that might be linked to the activity of heterotrophic bacteria as described below.

#### ***b. Peat degradation features revealed by TEM***

The peat used in this study was composed of plant cells components such as mosses (*Sphagnum*), lichens, dwarf shrubs and wood (Manasygov et al., 2017; Shirokova et al., 2017b). The TEM can be a useful tool in the investigation of peat biodegradation as it was used to monitor the degradation of wood (Daniel, 1994; Daniel et al., 1987) and peat-forming sphagnum and other mosses structures (Kettridge and Binley, 2011; Rezanezhad et al., 2016).

The poorly decomposed peat, like the one used in this study, is mostly represented by refractory compounds such as *Sphagnum* cell walls made of essentially cellulose but also of some non-cellulosic polysaccharides, including pectic polysaccharides as well as wood debris represented by lignitic components of cell walls of vascular plants (Kremer et al., 2004; Steinen, 1982; Theander et al., 1954). The hyaline cells of *Sphagnum*, whose major cell wall constituents are cellulosic, phenolic compounds, waxes, and polymerized lipids are very decay-resistant (Aerts et al., 1999; Tsuneda et al., 2001; van Breemen, 1995). They prevent the peat from microbial degradation as they form a barrier for microorganisms and their enzymes to gain access to cellulose (Dobrovol'skaya et al., 2014; Tsuneda et al., 2001). For these reasons, only minimal alterations of peat structure and vegetative cells upon *Iodobacter* sp. interaction with frozen peat were detected in this study.

Osmium tetroxide used for the preparation of TEM sample is a heavy metal stain that provides contrasts in TEM images and reacts/cross-links with proteins and lipids, particularly phospholipids containing double bonds. In our study, the darker area under TEM appeared to be the inner part of cells, as it is strongly linked to the added metal stain (Hayat, 2012). We can also see that, over the incubation time, the concentration of dissolved phosphate increased by a factor of 5, 10 and 12, respectively at 4, 25 and 45 °C in all SFP experiments with added *Iodobacter* sp. (Tableau 5 - 2). This can be explained by the degradation of these phosphate-rich areas that lead to the release of phosphate ions in the solution. Moreover, the lysis features of secondary walls observed at 4 and 25 °C may reflect the efficient degradation of complex components such as cellulose by Gram-negative bacteria (Blanchette et al., 1990; Daniel, 1994; Eriksson et al., 2012), occurring in the environment which is deficient in labile C compounds. Overall, the direct visualization of peat interaction with aqueous solutions and microbial cells complements the results of water chemistry monitoring thus providing new insights into the mechanisms of interaction between bacteria and organic matter.

### **5.1.7 Conclusions**

The laboratory incubations performed in this study were aimed at quantifying several controlling parameters (primarily the temperature and one heterotrophic bacterium) which certainly cannot represent the wide heterogeneity of natural aquatic environments. In particular, this study does not take into account vertical and lateral water flow in soils, fresh input of OM, the use of POM by the microbial community, the diel change of temperature and

respiration/photosynthesis cycle. However, the incubation of frozen peat and its aqueous leachate with and without culturable heterotrophic bacteria in a wide range of temperatures provided novel observations that might be necessary to consider in biogeochemical modelling of C cycle during permafrost thaw and surface water warming in permafrost zones of frozen peatlands.

- (i) Peat lixiviation and peat leachate aerobic biodegradation under early spring and late autumn temperatures (surface water and soil fluids temperatures are 0 to 4 °C) release and consume amounts of organic carbon (OC) similar to those measured at 25 °C, *i.e.* a typical summertime temperature in surface waters of frozen peatlands. The unexpectedly high release of bio-available carbon from peat into lakes and fluvial systems, at the beginning and at the end of the active season (unfrozen), requires the consideration of the full active period for the estimate of C release into the environment. An important conclusion is that the major input of newly available OM from frozen peat to the aquatic ecosystems is likely to occur at the beginning of thermokarst lake formation in peat soil depressions, and this does not require particularly high summertime temperatures.
- (ii) The temporal change of functional diversity over the 4 weeks of incubation suggests that the downward migration of the thawing front (the interface between the active layer and the frozen peat) will intensify and diversify the microbial activity of frozen peatlands on a short-term scale. Overall, the high metabolic diversity observed in the native microbial community (originated from the frozen peat) incubations reflects a higher potential of C mineralisation by the natural consortium, as compared to the added culturable heterotrophic bacteria.
- (iii) The morphological microscopic features of the association between bacteria and the peat particles were examined using TEM. Although the low number of observations and the high heterogeneity of the frozen peat used for the incubations do not allow any quantitative analysis, our study points out the preferential degradation of the inner plant cell by heterotrophic bacteria and the degradation of phospholipids materials leading to a release of phosphate.

### 5.1.8 Informations supplémentaires en réponse aux rapporteurs de la thèse

- Dans la partie « 5.1.4.1. – Bacteria and substrate : origins and use » :

- Les rapporteurs s'interrogent sur un potentiel de suivi de l'oxygénation des solutions lors des 3 jours de lixiviations des substrats : malheureusement aucun suivi des conditions d'oxygénation n'a pu être réalisé durant cette expérience.

- À la phrase : « After 3 days of reaction, the suspension was centrifuged at 4,500 g for 5 to 10 minutes, filtered through a 0.45 µm Nalgen sterile filter and then used as a substrate in experiments. », les rapporteurs s'interrogent sur la présence faible voire nulle de bactéries dans le filtrat. Puisque les filtrats sont réalisés à 0,45 µm la présence de bactéries est inéluctable. Cela se voit d'ailleurs par les valeurs de CFU à 0 jours d'incubation ( incubations de contrôle sans ajout de la suspension bactérienne de *Iodobacter* sp.) qui varient entre  $10^2$  et  $10^6$  cellules.mL<sup>-1</sup>.

Toujours concernant cette phrase, il semble nécessaire de préciser que le filtrat obtenu par cette technique ne sert que de substrat aux incubations de SFP (Solid Frozen Peat). À ce filtrat sera ajouté ou non la suspension bactérienne de *Iodobacter* sp..

- Dans la partie « 5.1.4.2.c – Microbiological analyses » :

Les rapporteurs questionnent le choix de la méthode de comptage bactérienne en CFU par rapport aux autres méthodes présentées dans le **chapitre 1 section 1.2 – Matériels et méthodes**, c'ad la méthode de comptage DAPI et celle par cytométrie en flux. Deux grandes explications justifient ce choix :

D'une part la méthode de CFU permet d'obtenir le nombre de bactéries vivantes à un instant « t » et donc le nombre de bactéries potentiellement impliquées dans la biodégradation de la MO (observée par l'évolution du COD au cours du temps). La cytométrie en flux tout comme la technique de DAPI sont des comptages des cellules bactériennes vivantes et mortes. Ainsi ces techniques peuvent surestimer le nombre de bactéries réellement impliquées dans la biodégradation.

D'autre part, et de manière plus pratique cette fois, le comptage CFU est une technique que nous pouvons réaliser directement au laboratoire du GET dans des conditions optimales : disponibilité du matériel, stérilisation du matériel et des surfaces de travail, et temps d'attente limité entre les prélèvements et les mesures. Les comptages DAPI sont réalisés par nos

collègues et partenaires du laboratoire de recherche d'Arkhangelsk (Russie), spécialisés en microbiologie. Cela implique donc que les échantillons destinés au comptage DAPI doivent être prélevés et fixés au laboratoire GET à Toulouse puis transportés dans des conditions optimales de températures et de conservations jusqu'en Russie, ce qui n'est pas toujours possible. Dans le cas de la mesure par cytométrie en flux, celle-ci se fait au laboratoire ECOLAB à Toulouse et pose moins de problèmes de conservation et de transport que la méthode DAPI. Néanmoins, lors de l'expérience décrite dans **ce chapitre (section 5.1)**, nous n'avions pas encore connaissance de cette méthode et de son accessibilité. Dans le reste des expériences décrites dans ce manuscrit (qui ont été réalisées après celle de **cette section**), la méthode par cytométrie en flux est utilisée et peut parfois être couplée à la méthode de comptage CFU afin d'obtenir la proportion de bactéries actives dans les solutions analysées.

Il est à noter que la méthode CFU présente une limitation assez forte : *i)* toutes les bactéries extraites du milieu naturel ne sont pas cultivables en laboratoire et *ii)* puisque la technique de CFU s'effectue sur une plaque de gélose, la composition de cette dernière détermine fortement le type de bactérie pouvant s'y développer. Ainsi, il existe un biais du comptage CFU par rapport aux échantillons naturels. Toutefois, ce constat n'invalide pas l'expérience présentée dans cette section. Le but du comptage CFU de cette expérience était de suivre le développement de la communauté bactérienne de *Iodobacter* sp., pour laquelle la gélose choisie était la plus adaptée.

- Dans la partie « 5.1.4.3 – Transmission Electron Microscopy (TEM) » :

Les concentrations indiquées dans cette partie (exemple : « 2.5% glutaraldehyde / 2% paraformaldehyde ») sont des concentrations finales.

- Dans la partie « 5.1.5.1 – DOC behaviour » :

Les rapporteurs s'interrogent sur de potentiels réplicats des incubations de contrôle FPL (Frozen Peat Leachate). Toutes les incubations ont été réalisées en duplicat à l'exception des incubations de contrôle de FPL.

- Dans la partie « 5.1.5.3 – Bacteria cell number and Ecoplate analyses of microbial functional diversity in the SFP incubations » :

Les rapporteurs s'interrogent sur la correspondance entre les concentrations mesurées de CFU dans les incubations avec ajout de la souche *Iodobacter* sp. (environ  $10^9$  CFU.mL<sup>-1</sup>) et la concentration initiale de la souche ajoutée dans les incubations (1 g<sub>humide</sub>.L<sup>-1</sup>).

Malheureusement, cette correspondance ne peut pas être établie pour plusieurs raisons : *i*) la suspension bactérienne ajoutée à 1 g<sub>humide</sub>.L<sup>-1</sup> contient à la fois de la biomasse vivante et morte. Et cette distinction n'a pas été mesurée avant ajout de la suspension. Et *ii*) la gélose utilisée dans cette expérience est adaptée à *Iodobacter* sp. mais d'autres espèces bactériennes provenant du substrat utilisé peuvent s'y développer. Ce qui, dans le cas où une mesure de CFU aurait été réalisée sur la suspension bactérienne ajoutée avant incubation, surestime le nombre de cellules vivantes de *Iodobacter* sp. mesuré dans les incubations par rapport à l'ajout initial.

- Dans la partie « 5.1.6.1 – DOC trend during peat leaching and biodegradation » :

Comme indiqué par les rapporteurs, la biodégradation n'implique pas uniquement le processus de minéralisation du carbone. Les bactéries sont aussi source de MOD, de par la production de MO cellulaire (corps cellulaire) mais aussi celle d'EPS (extracellular polymeric substances). Il est difficile de distinguer les différents processus de production et de dégradation de la MOD à partir des seuls paramètres d'évolution du COD et d'indices tels que le SUVA<sub>254</sub>. Une analyse plus détaillée de la composition de la MOD (outre la mesure des concentrations en acides organiques légers réalisée dans cette étude) aurait-été un apport non négligeable à la compréhension de ces processus.

- Dans la partie « 5.1.6.1.a – DOC release from frozen peat at different temperatures » :

- Les rapporteurs soulèvent un point d'incompréhension légitime dans les termes décrivant la tourbe utilisée : le terme SFP pour Solid Frozen Peat indique uniquement que la tourbe utilisée a été conservée gelée depuis son prélèvement. Mais cette dernière a été prélevée juste au-dessus de la limite entre le pergélisol et la couche active, elle a donc déjà subi des cycles de gel et de dégel. Le comportement du COD issu de cette tourbe est donc bien en accord avec les études citées ([Heslop et al., 2019](#); [Reyes and Loughheed, 2015](#)).

- À la phrase : « Note that the decomposition of recalcitrant soil organic matter exhibits a higher temperature sensitivity ([Conant et al., 2008a](#)), which could explain the difference

between the observed release rate of DOC at 4 and 25 °C compared with those at 45 °C », les rapporteurs indiquent que le fait de parler à la fois des processus de relargage du COD et de décomposition de la MO rend la compréhension de la phrase complexe.

Dans le cas des incubations SFP dont parle cette phrase, la minéralisation (décomposition totale) de la tourbe passe par plusieurs étapes avant la production finale de CO<sub>2</sub>. L'une de ces étapes est la solubilisation de la MO particulaire en MOD, notamment sous l'action des bactéries mais aussi des processus mécaniques de lixiviation de la tourbe. Ainsi l'augmentation des concentrations en COD dans les solutions durant les incubations peut refléter un état intermédiaire de la MO en voie de minéralisation. Il n'est donc pas contradictoire dans le cas de cette étude de parler des processus de minéralisation / décomposition observables par le relargage de COD.

- À la phrase : « It is thus possible that the frozen peat used in our study releases only labile OC at 4 and 25 °C and that the excess of DOC observed at 45 °C corresponds to the recalcitrant OM of peat. », les rapporteurs indiquent ne pas comprendre comment les résultats obtenus dans cette étude supportent cette hypothèse.

Cette remarque est certainement due à une tournure de phrase qui doit être précisée. La phrase en anglais peut porter à confusion, on peut y comprendre que le relargage massif de COD à 45 °C ne vient que du COD récalcitrant. Or, ce que nous proposons ici c'est que le relargage du COD dans les incubations à 4 et 25 °C provient majoritairement du COD labile. Alors que le relargage de COD observé dans les incubations à 45 °C est beaucoup plus important car il provient à la fois du COD labile mais aussi du récalcitrant.

- Dans la partie « 5.1.6.1.b –DOC removal during biodegradation of peat leachate» :

- À la phrase : « They are also consistent with the 10-40% range obtained for BDOC from the thawing and collapsing permafrost experiment of [Abbott et al. \(2014\)](#), as well as with values of the microbial utilisation of DOC in streams (3-11%) and in vegetation leachates (66%) of a 28 days incubations conducted at 20 °C ([Textor et al., 2019](#)) » les rapporteurs indiquent que la comparaison avec les incubations de lessivât de végétation n'est pas la plus appropriée car notre étude repose sur une incubation de tourbe.



Cette remarque est pertinente. L'ajout de cette référence (Textor et al., 2019) a néanmoins permis de comparer nos résultats aux incubations d'autres MO contenant de plus grandes quantités de MO labile (végétation) et provenant des régions à pergélisols discontinus. Cela permet de noter que la tourbe utilisée dans l'expérience décrite par **ce chapitre** est aussi biodégradable que la MO labile de la végétation présente dans la litière des sols des régions à pergélisols discontinus.

- À la phrase : « We hypothesize that some lysis of bacterial cells at these conditions may be responsible for additional DOM production and apparently 'negative' BDOC values », les rapporteurs questionnent la faisabilité d'un calcul "inverse" permettant de déterminer la quantité de carbone contenu dans les enveloppes bactériennes afin de confirmer l'hypothèse énoncée (l'augmentation du COD due à la lyse des cellules bactériennes).

Dans le cas de cette expérience, les données récoltées ne permettent pas ce calcul. Néanmoins ce dernier semble possible. Pour cela, il serait nécessaire de combiner les comptages CFU et de cytométrie en flux afin de déterminer la proportion de cellules vivantes par rapport au total des cellules comptées par cytométrie en flux. Notons tout de même que, comme évoqué plus haut, le comptage CFU est biaisé par la culture sur gélose sélective. Ainsi, la différence entre CFU et cytométrie en flux, c'est-à-dire la proportion de cellules mortes, peut être surestimée. Si l'on met de côté ce biais, il faut ensuite établir la biomasse en  $\text{mgC}\cdot\text{mL}^{-1}$  de l'échantillon (cellules vivantes et mortes confondus). Ainsi en divisant la biomasse par le nombre total de cellules (mortes et vivantes), on obtiendra la concentration moyenne de C dans une cellule de bactérie. Au final, la différence calculée de CFU entre 2 prélèvements multipliée par la concentration moyenne de C dans une cellule bactérienne pourrait indiquer la quantité maximum de C apportée dans la solution par la lyse des cellules. Ce calcul repose sur beaucoup de biais, même s'il semble réalisable, il n'est pas forcément adéquat.

- Dans la partie « 5.1.6.2 – Heterotrophic bacteria functional diversity, microbial cell number and organic acids in the presence of frozen peat and frozen peat leachate » :

- Au paragraphe: « Consistent with the negligible impact of temperature on both DOC release from peat and DOC removal in peat leachate, the number of viable bacteria was similar at 4 and 25 °C ( $10 \pm 1 \times 10^8$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ). This refutes the possibility of variance in the

biodegradation rate as a function of temperature due to a difference in microbial cell numbers. In addition, the non-significant variations of richness (H), evenness (E) and AWCD indices between 4 and 25 °C incubations with SFP suggest a comparable metabolic activity of the microbial community at low and medium temperature. It indicates a quite high degradation rate of frozen peat from freshly thawed permafrost at 4 °C», les rapporteurs soulignent que bien que la biodégradation à 4 et 25 °C semble similaire, cela n'indique pas que le taux de biodégradation à 4°C soit élevé. Cela est juste, et la dernière phrase de ce paragraphe aurait dû être écrite différemment : « It indicates a degradation rate of frozen peat equally efficient during early spring (4 °C) and mid-summer (25 °C) ».

- À la phrase: « Furthermore, the lower values of AWCD, H and E indexes at 45 °C incubation compared with those at 4 and 25 °C are in agreement with observations made by [Steinweg et al. \(2008\)](#) showing that the microbial carbon use efficiency declined at the warmest temperatures. » les rapporteurs ajoutent que l'efficacité de l'utilisation du carbone par les microorganismes dépend de l'assemblage microbien.

- À la phrase : « Ecoplate analyses indicate that the AWCD as well as the Shannon index of richness and evenness (H and E) decrease over incubation time (except for E with added *Iodobacter* sp. experiment), reflecting a decrease of heterotrophic metabolic diversity, *i.e.*, consumption of various nutritive resources by microorganisms. », les rapporteurs s'interrogent sur le fait que les conditions d'incubation pourraient aussi être la source de cette diminution d'activité métabolique, défavorisant ainsi la communauté microbienne native. Cette proposition est juste et doit être ajoutée comme hypothèse à ce déclin d'activité métabolique.

- Dans la partie « 5.1.7 – Conclusion » :

Les rapporteurs indiquent qu'il faudrait ajouter que la première conclusion (i) doit être vérifiée/testée dans d'autres systèmes arctiques afin de confirmer une tendance générale.

## ***Section 5.2***

***Biodégradation anaérobie  
d'un profil de sol provenant  
d'une tourbière à pergélisol  
discontinu (Sibérie  
occidentale)***

### **5.2.1 Contexte de l'expérimentation**

A la suite des incubations aérobies menées sur la MOD provenant de la tourbe et biodégradée dans les eaux, il semblait logique et nécessaire de s'intéresser aux processus de biodégradation de la matière organique des sols en condition anaérobie. Un profil de sol a donc été incubé en condition anaérobie afin de simuler le dégel des sols et la biodégradation de la MO. Les détails expérimentaux sont donnés dans le **chapitre 1 (section 1.2, partie 1.2.3.4)**.

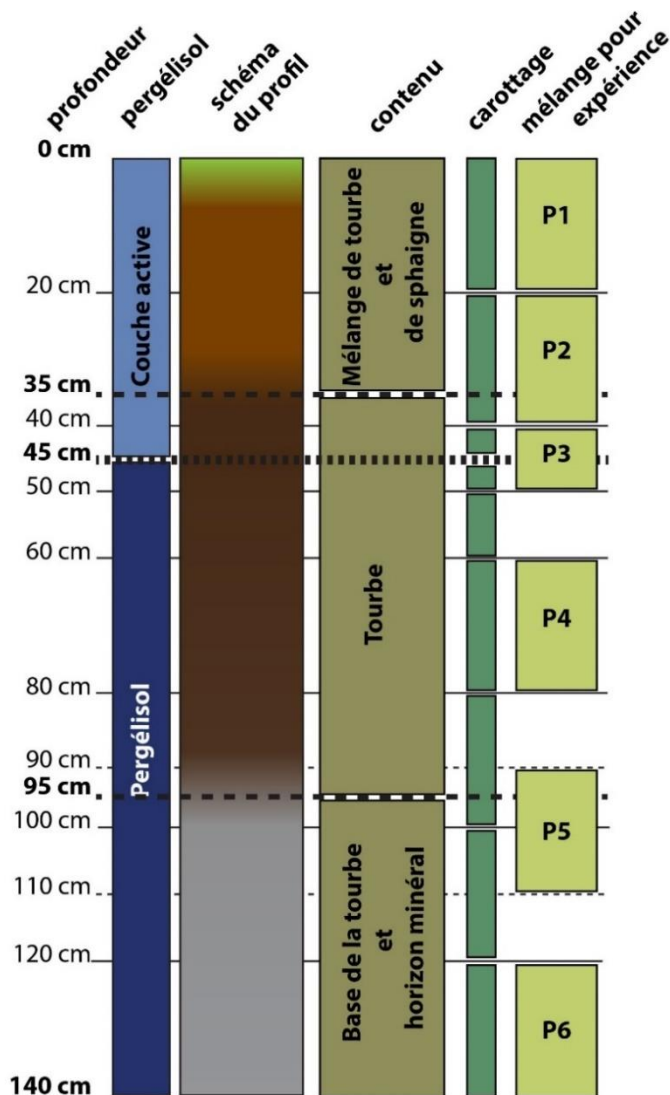
Cette expérience a débuté fin février 2020 et devait durer environ 4 à 5 mois, ce qui correspond à la période durant laquelle les lacs et les sols des régions étudiées (*i.e.* Sibérie occidentale, Russie Européenne et Nord de la Suède) sont dégelés (~ de juin à octobre). Malheureusement, la pandémie qui a touché le monde en ce début d'année 2020, a été un frein considérable à l'aboutissement de cette expérience. En effet, comme indiqué dans la description de l'expérience (**chapitre 1**), avant incubation des sols, différents échantillons ont été prélevés afin de réaliser diverses analyses telles que : le dosage des concentrations en Fe et Mn, l'analyse Rock-Eval, le rapport C/N, l'isotopie du carbone et de l'azote ( $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ ), le dosage en carbone inorganique particulaire (CIP), le dénombrement total des bactéries, la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne anaérobie de la tourbe, le COD, le CID et l'absorbance UV des eaux présentes dans les incubations. Ces analyses n'ont pu être réalisées pour l'instant, compte tenu non seulement de la fermeture des différents services d'analyses due au COVID 19, puis à la période de déconfinement avec accès restreint à ces services, mais aussi à la fermeture estivale des laboratoires. Ces échantillons ont été néanmoins, fixés et stockés afin de réaliser ultérieurement les analyses requises. Ainsi, les seuls paramètres mesurés et pouvant être présentés dans ce manuscrit de thèse sont les flux de GES ( $\text{CO}_2$  et  $\text{CH}_4$ ) du profil de sol.

Compte tenu de ces fermetures et accès restreints, les mesures de flux de gaz à effet de serre (GES) ont aussi été très perturbées. Après un peu moins d'un mois de mesures de ces GES (du 21/02 au 15/03), nos données comportent 2 mois de lacune correspondant à la durée officielle du confinement et au temps nécessaire à la réouverture du laboratoire (du 16/03/2020 au 19/05/2020). Puisque les 2 mois de non-collection de données sur un total de 4 à 5 mois d'expérience rendent l'interprétation compliquée, il a été décidé de pousser au

maximum le temps d'incubation des expériences, jusqu'à la fin du contrat de cette thèse (*i.e.* décembre 2020) pour un total d'environ 9 à 10 mois d'expérience.

### 5.2.2 Résumé de l'expérience

Commençons par rappeler rapidement quels sont les mélanges de sols (nommés P1 à P6) qui ont été incubés à 4°C et en conditions anaérobies pour cette expérience (**Figure 5 - 7**). On parle ici de « mélanges » car les sols incubés proviennent d'échantillons prélevés sur 10 à 20 cm de profondeur. Dans la couche active, le mélange P1 est proche de la surface et contient de la tourbe et de la sphaigne (issue de la litière), il a été prélevé sur 20 cm de profondeur (0-20 cm). Le mélange P2 a été récolté lui aussi sur 20 cm (de 20 à 40 cm de profondeur), il contient également de la tourbe et de la sphaigne mais la proportion de sphaigne est inférieure à celle du mélange P1. Le mélange P3 a été prélevé à l'interface entre la couche



**Figure 5 - 7 :** Schéma présentant l'origine et la composition générale des mélanges de sols (P1 à P6) incubés en condition anaérobie.

active et le pergélisol, il contient donc de la tourbe de ces deux couches. Trois mélanges issus du pergélisol ont aussi été utilisés : P4 a été prélevé entre 60 et 80 cm de profondeur et contient uniquement de la tourbe ; P5 qui a été récolté entre 90 et 110 cm contient de la tourbe et un peu d'horizon minéral ; et finalement le mélange P6, prélevé entre 120 et 140 cm de profondeur, contenant de la tourbe et une proportion plus importante d'horizon minéral que dans le mélange P5. Une limite nette entre horizon minéral et organique n'a pas pu être définie avec précision dans les mélanges P5 et P6 et se trouve donc potentiellement plus en profondeur.

Afin de comparer les résultats obtenus entre les répliqués, nous présentons les valeurs de flux net (= productions - consommations) de GES et non les concentrations obtenues. Les flux seront présentés en nanomole (nmol) de GES (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) par gramme de sol incubé. A noter que la période de confinement qui a empêché toutes mesures correspond aux jours d'incubations 25 à 88.

Avant le lancement de cette expérience plusieurs hypothèses ont été émises : *i)* les sols situés proches de la surface (mélange P1) et donc de la litière possèdent plus de MO labile (Ma et al., 2019) et produiront donc plus de CO<sub>2</sub> lors de la biodégradation ; *ii)* la MO provenant de la tourbe de la couche active a subi plusieurs cycles de gel-dégel et de biodégradation. Ainsi, la MO « fraîchement dégelée » de la tourbe du pergélisol pourrait produire plus de GES que son homologue de la couche active, à cela s'ajoute une communauté microbienne plus riche en méthanogène dans les sols du pergélisol (Huissteden, 2020) qui pourrait donc produire plus de méthane que les sols issus de la couche active ; *iii)* les flux de GES diminueront jusqu'à devenir nuls lorsqu'il ne restera plus que la MO la plus réfractaire dans les sols (*i.e.* lorsque la MO labile aura été totalement biodégradée).

### 5.2.3 Résultat et discussion préliminaire de l'expérience

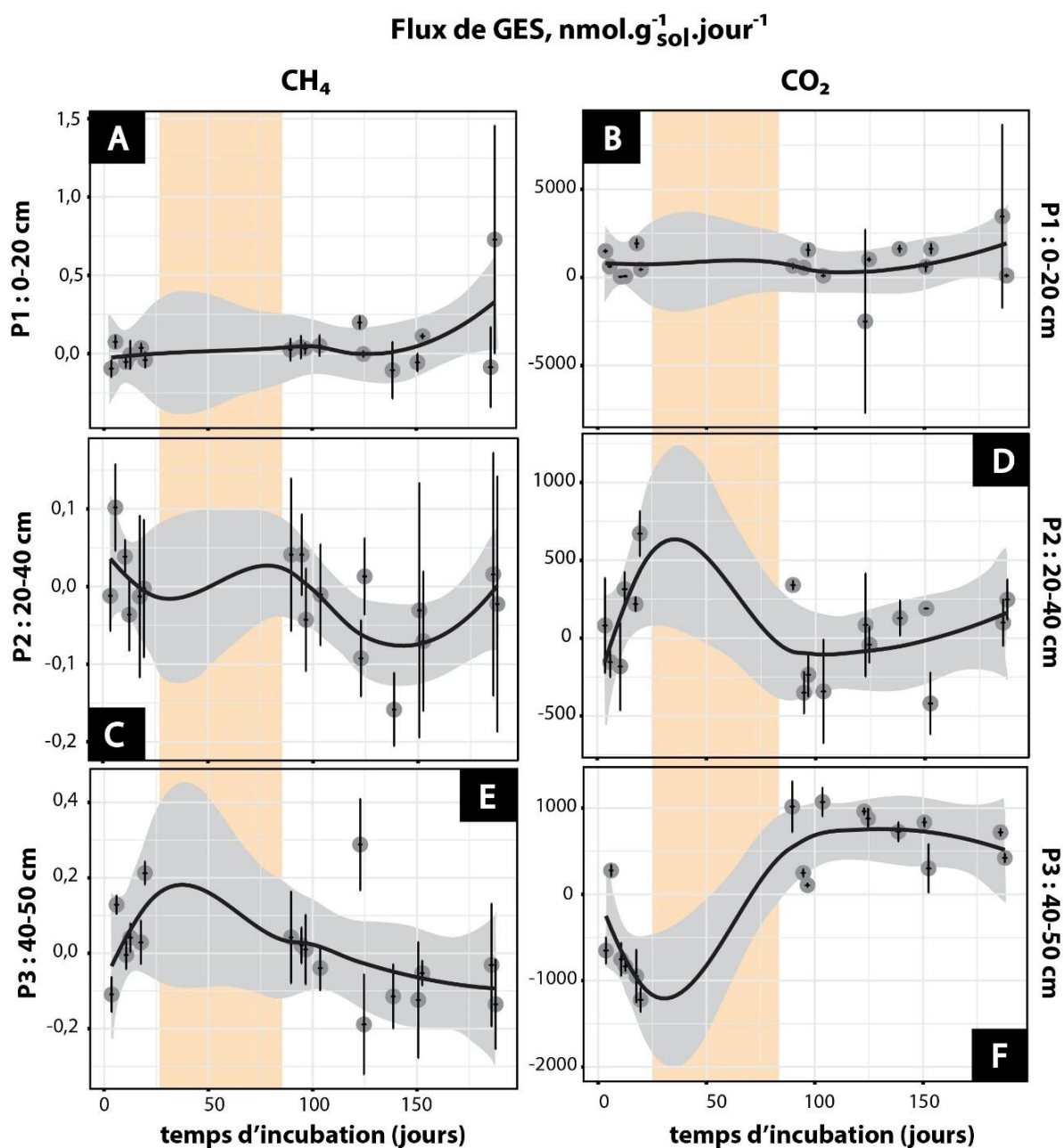
Les **Figure 5 - 8** et **Figure 5 - 9** présentent l'évolution des flux de GES des mélanges situés à différentes profondeurs en fonction du temps d'incubation. De manière globale, la production de CH<sub>4</sub> n'excède pas plus de  $0,99 \pm 1,4 \text{ nmol.g}^{-1}_{\text{sol.jour}^{-1}}$  (production à 11 jours d'incubation du mélange P5 situé entre 90 et 110 cm de profondeur, **Figure 5 - 9C**). La production maximale de CO<sub>2</sub> est atteinte par le mélange P1 situé le plus en surface (0-20 cm, **Figure 5 - 8B**) et elle est de  $3468,29 \pm 5200,9 \text{ nmol.g}^{-1}_{\text{sol.jour}^{-1}}$  au 186<sup>ème</sup> jour d'incubation. La consommation maximale de CH<sub>4</sub> est atteinte à 13 jours d'incubation pour le mélange P5 ( $-0,98 \pm 1,5 \text{ nmol.g}^{-1}_{\text{sol.jour}^{-1}}$ , **Figure 5 - 9C**) et celui de CO<sub>2</sub> à 123 jours dans le mélange P1 ( $-2497,51 \pm 5192,5 \text{ nmol.g}^{-1}_{\text{sol.jour}^{-1}}$ , **Figure 5 - 8B**).

Au cours des 7 mois d'expériences d'incubation présentés ici (jusqu'à septembre 2020) les flux en CH<sub>4</sub> des mélanges de sols P1, P2 (**Figure 5 - 8A** et **C**) et P5 (**Figure 5 - 9C**) et les flux en CO<sub>2</sub> des mélanges P1 (**Figure 5 - 8B**) et P6 (**Figure 5 - 9F**) semblent relativement stables. Les flux en GES des autres mélanges semblent avoir un comportement qui varie entre la période pré-confinement (*i.e.* 0 à 24 jours) et la période post-confinement (89 à 189 jours). Avant le

confinement : les flux augmentent pour le CH<sub>4</sub> dans les mélanges P3 et P4 (**Figure 5 - 8E** et **Figure 5 - 9A**) et pour le CO<sub>2</sub> dans le mélange P2 (**Figure 5 - 8D**) ; les flux de CH<sub>4</sub> diminuent dans le cas du mélange P6 (**Figure 5 - 9E**) et il en est de même pour les flux de CO<sub>2</sub> des mélanges P3 (**Figure 5 - 8F**), P4 et P5 (**Figure 5 - 9B** et **D**). Pendant le confinement les intervalles de confiance (niveau de confiance à 95%) indiquent que : *i*) les flux de CH<sub>4</sub> restent relativement stables dans le mélange P6 (**Figure 5 - 9E**) et diminuent dans les mélanges P3 et P4 (**Figure 5 - 8E** et **Figure 5 - 9A**) ; et *ii*) les flux de CO<sub>2</sub> diminuent dans P2 (**Figure 5 - 8D**) et augmentent dans les mélanges P3 ,P4 et P5 (**Figure 5 - 8F** et **Figure 5 - 9B** et **D**) . Après le confinement, les flux restent stables pour le CH<sub>4</sub> de P6 (**Figure 5 - 9E**) et pour le CO<sub>2</sub> de P3 (**Figure 5 - 8F**), ils diminuent légèrement dans le cas du CH<sub>4</sub> de P3 (**Figure 5 - 8E**) et fortement pour le CO<sub>2</sub> de P5 (**Figure 5 - 9D**), et finalement les flux augmentent fortement pour le CH<sub>4</sub> et le CO<sub>2</sub> de P4 (**Figure 5 - 9A** et **B**) et plus légèrement pour le CO<sub>2</sub> de P2 (**Figure 5 - 8D**).

Ces observations variées semblent indiquer qu'il n'existe pas de modèle unique d'évolution des flux au cours du temps, ni même de dépendance à la profondeur d'origine du sol incubé. De plus, la stabilisation des flux (évoquée dans les hypothèses de cette expérience) semble atteinte pour le CH<sub>4</sub> des mélanges P5 et P6 ; et pour le CO<sub>2</sub> des mélanges P1, P3 et P6. Mais l'absence de mesures durant les 2 mois de confinement au début de l'expérience entraîne une forte incertitude sur l'évolution générale de ces flux. Il serait donc hâtif de conclure à une réelle stabilisation des flux post période de confinement. Ce qui peut néanmoins être conclu, c'est l'importance de la période au cours de laquelle les mesures de GES n'ont pu être réalisées. En effet, on note que ces périodes sont des temps importants durant lesquels certains flux peuvent s'inverser (voir les perspectives concernant ce point dans la **sous-section 5.2.4**). En effet, une étude similaire d'incubation anaérobie de sols issus d'horizons organiques et minéraux provenant d'Alaska et incubés à 8°C durant 8 mois a été réalisée par [Yang et al. \(2016\)](#). Leur étude montre que pour les deux types d'horizons, les productions de CO<sub>2</sub> diminuent avec le temps, alors que celles du CH<sub>4</sub> augmentent durant les 10 premiers jours puis diminuent jusqu'à la fin de l'expérimentation. Dans le cas de l'horizon organique, les maximums de production de CO<sub>2</sub> et de CH<sub>4</sub> atteignent respectivement 3000 et 200 nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup> environ et les minimums pour le CO<sub>2</sub> sont de 200 nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup> et de 60 nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup> pour le CH<sub>4</sub>. Dans le cas de l'horizon minéral les productions de CO<sub>2</sub> sont comprises entre 120 et 450 nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup> et celles du CH<sub>4</sub> entre 65 et 100 nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup>.

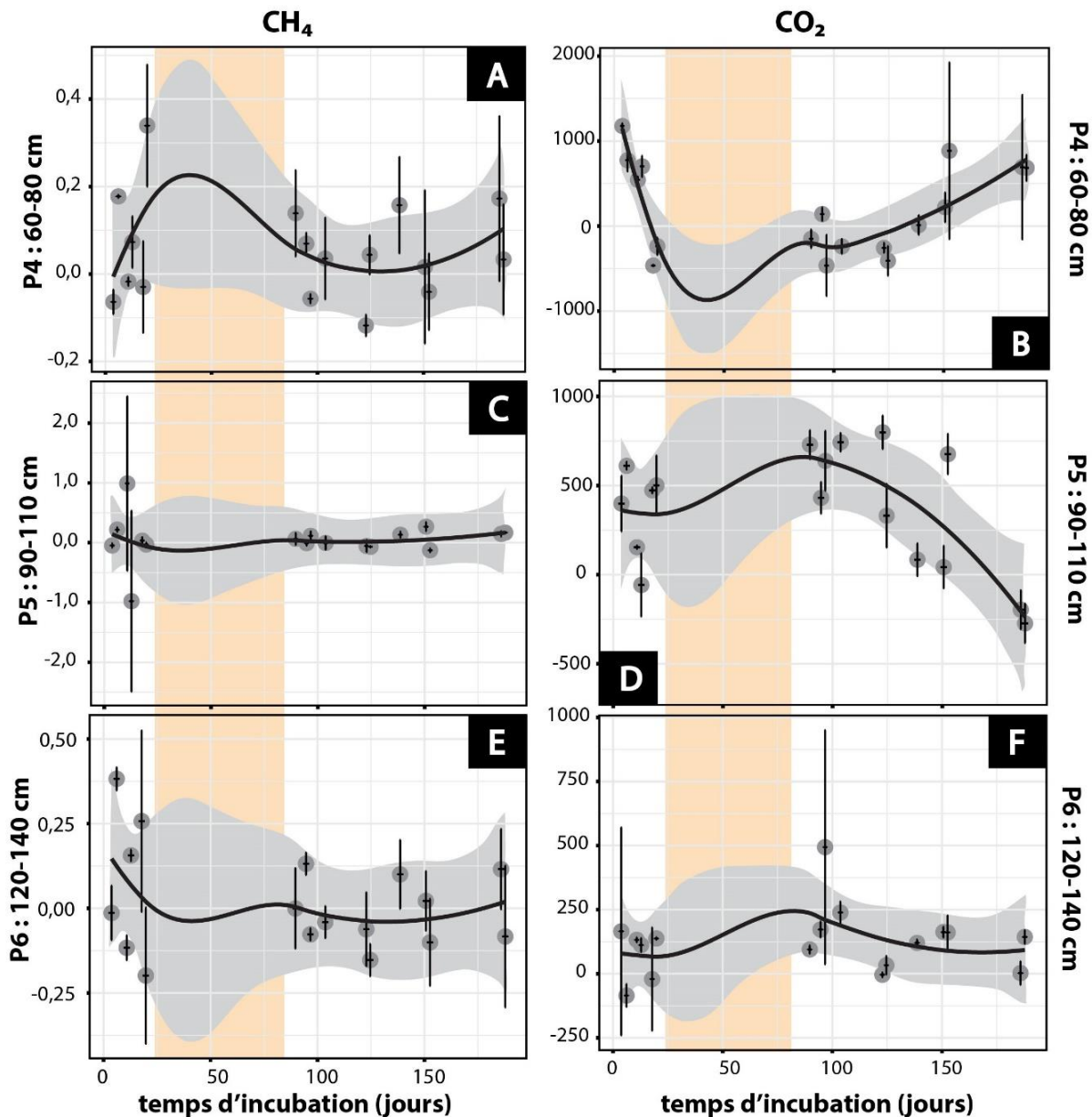
Ces valeurs sont légèrement plus importantes que celles obtenues dans notre étude pour le CO<sub>2</sub> mais surtout largement (100 à 1000 fois) supérieures pour le CH<sub>4</sub>.



**Figure 5 - 8 :** Flux des GES (CH<sub>4</sub> sur la colonne de gauche et CO<sub>2</sub> sur la colonne de droite ; en nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup>) en fonction du temps d'incubation (jours). Mélanges incubés aux profondeurs suivantes : 0-20 cm (P1, A et B), 20-40 cm (P2, C et D) et 40-50 cm (P3, E et F). Chaque point représente une valeur de flux calculée entre 2 mesures de concentrations de GES, les barres d'erreurs horizontales représentent le laps de temps écoulé entre ces 2 mesures de concentrations. Les barres d'erreurs verticales correspondent à l'écart-type entre les réplicats. Les lignes noires représentent les régressions réalisées sur les données et les aires grises indiquent l'intervalle de confiance des données à 95%. La zone orangée indique la période de non-mesure due au confinement.



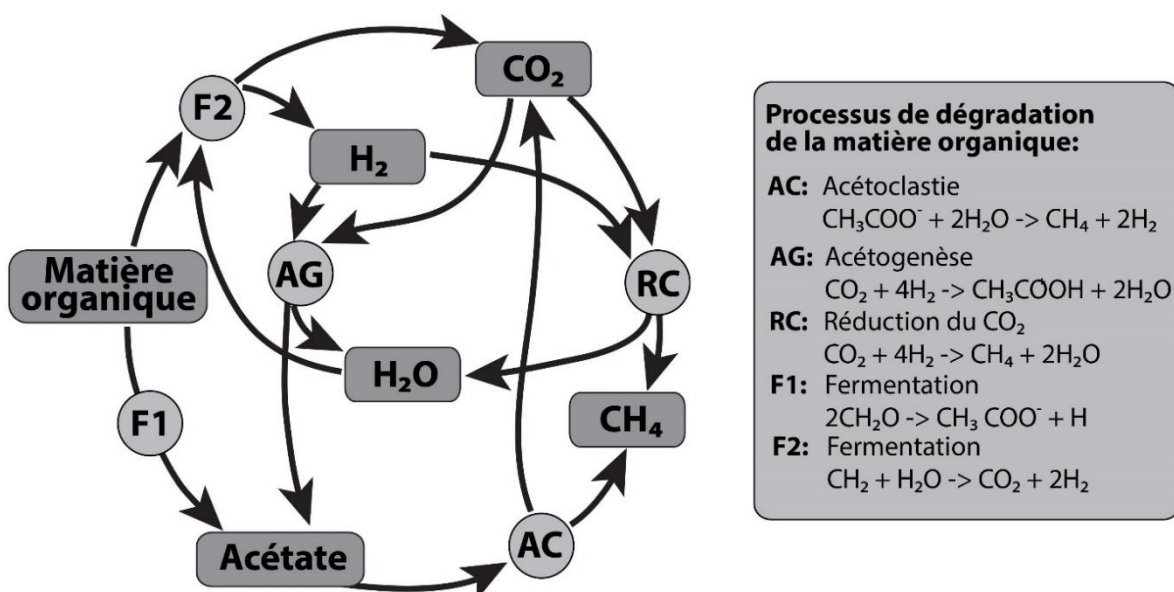
Flux de GES,  $\text{nmol.g}^{-1}_{\text{sol}}.\text{jour}^{-1}$



**Figure 5 - 9 :** Flux des GES ( $\text{CH}_4$  sur la colonne de gauche et  $\text{CO}_2$  sur la colonne de droite ; en  $\text{nmol.g}^{-1}_{\text{sol}}.\text{jour}^{-1}$ ) en fonction du temps d'incubation (jours). Mélanges incubés aux profondeurs suivantes : 60-80 cm (P4, **A** et **B**), 90-110 cm (P5, **C** et **D**) et 120-140 cm (P6, **E** et **F**). Chaque point représente une valeur de flux calculée entre 2 mesures de concentrations de GES et les barres d'erreurs horizontales représentent le laps de temps écoulé entre ces 2 mesures de concentrations. Les barres d'erreurs verticales correspondent à l'écart-type entre les réplicats. Les lignes noires représentent les régressions réalisées sur les données et les aires grises indiquent l'intervalle de confiance des données à 95%. La zone orangée indique la période de non-mesure due au confinement.

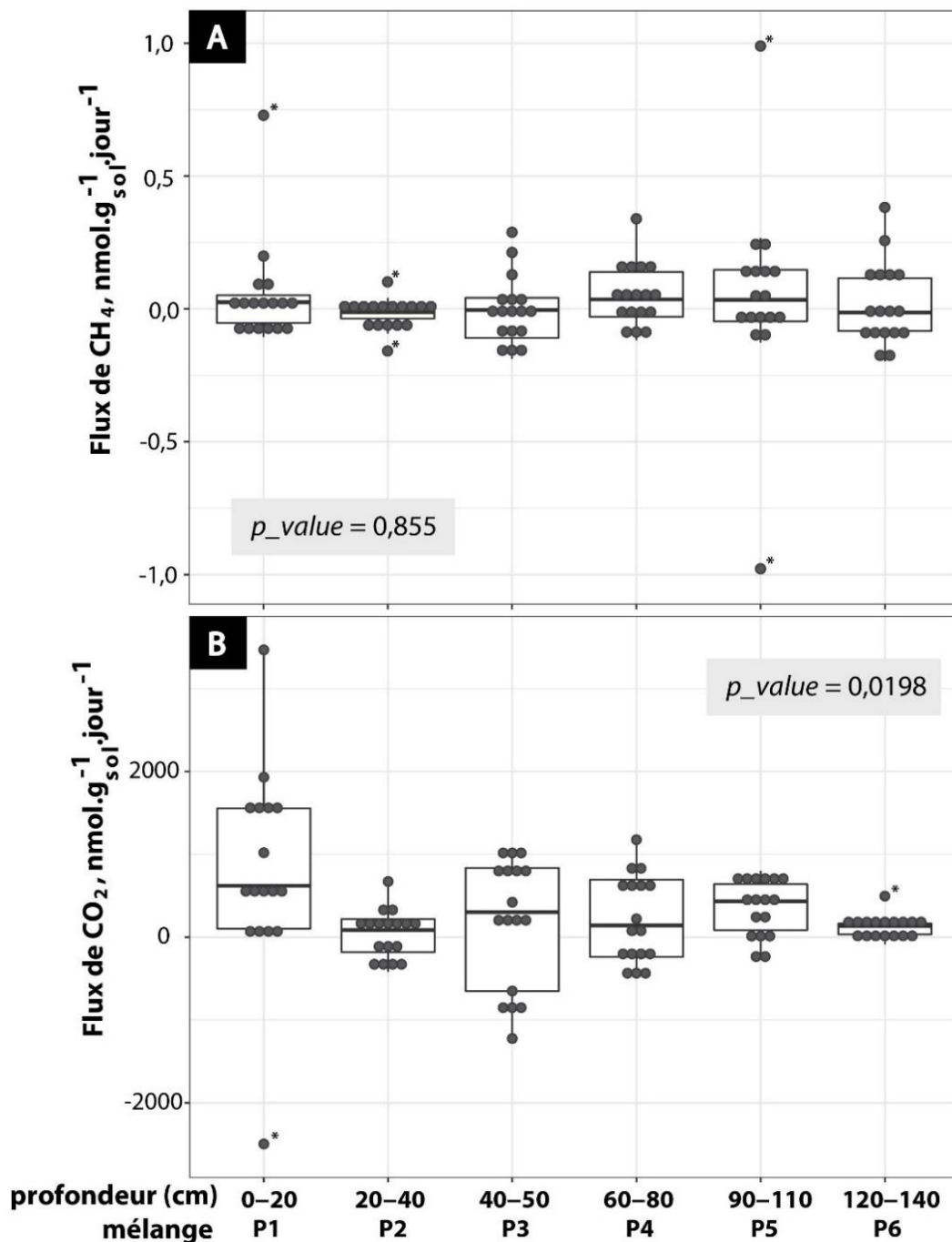
Malgré l'absence apparente d'un « modèle » d'évolution des flux de GES avec la profondeur des sols incubés, on peut tout de même noter que les mélanges P3 et P4 présentent des comportements de flux similaires. En effet, dans ces deux mélanges on

observe une production de méthane associée à une consommation du dioxyde de carbone avant le confinement et une évolution inversée après le confinement (**Figure 5 - 8E et F**, et **Figure 5 - 9A et B**). On peut donc supposer qu'il existe une corrélation entre les productions/consommations de CH<sub>4</sub> et de CO<sub>2</sub> dans ces deux mélanges. La **Figure 5 - 10** (remaniée à partir de [Eilrich and Steinmann, 2003](#)) est un schéma qui représente les cycles de production et de consommations pouvant s'effectuer en conditions anaérobies, entre les flux de CH<sub>4</sub> et de CO<sub>2</sub>. Il est possible que durant la période pré-confinement, le CO<sub>2</sub> ait été réduit en CH<sub>4</sub>. Néanmoins, cette réaction de réduction (RC) forme 1 mole de CH<sub>4</sub> par mole de CO<sub>2</sub> consommée, et la perte de CO<sub>2</sub> observée dans les mélanges P3 et P4 dépasse largement la production de CH<sub>4</sub>. Alors que cette production de méthane semble pouvoir être totalement due à la réduction du CO<sub>2</sub> il semble cependant qu'un autre processus de consommation du CO<sub>2</sub> intervienne durant cette même période, probablement l'acétogenèse (AG, formation d'acétate à partir de CO<sub>2</sub> et d'H<sub>2</sub>). De plus, la production de méthane peut aussi provenir de l'acétoclastie (production de méthane par la dégradation d'acétate, AC) et donc ne pas dépendre des variations de CO<sub>2</sub>. À ce processus de dégradation de la MO peut s'ajouter la formation de CO<sub>2</sub> par d'autres réactions telles que la dénitrification, la fermentation et la réduction du Mn et du Fe, ainsi que la réduction des sulfates (voir **chapitre 1, sous-section 1.1.2**). Les données disponibles à cet instant pour cette expérience ne permettent pas d'affirmer ou de réfuter ces hypothèses (voir **sous-section 5.2.4** concernant les perspectives pouvant apporter des résultats à ce sujet).



**Figure 5 - 10 :** Processus métaboliques régissant les cycles de CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub> en conditions anaérobies, par production et consommation corrélée de ces deux GES. Ce schéma est adapté à partir d'une illustration originale d'[Eilrich and Steinmann \(2003\)](#).

Les graphiques suivants présentent sous forme de boxplot les flux de CH<sub>4</sub> (**Figure 5 - 11A**) et de CO<sub>2</sub> (**Figure 5 - 11B**) en nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup>, obtenus tout au long de l'incubation en fonction du mélange de sol incubé (*i.e.* de la profondeur des sols). Un test ANOVA réalisé sur ces données indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents mélanges dans le cas des flux de CH<sub>4</sub> ( $p\_value > 0,05$ ) mais qu'il existe une différence significative ( $p\_value < 0,05$ ) dans le cas du CO<sub>2</sub> (*i.e.* au moins un des mélanges a des flux de CO<sub>2</sub> significativement différents des autres). Les flux de CH<sub>4</sub> étant significativement identiques, on peut donc rejeter l'hypothèse selon laquelle le pergélisol produit plus de méthane que la couche active (dans le cas de cette expérience). De plus, l'une des hypothèses d'origines de cette expérience était une production plus importante de CH<sub>4</sub> mais aussi de CO<sub>2</sub> lors de la biodégradation de la MO du pergélisol du fait de la préservation de sa MO vis-à-vis de la couche active. Comme indiqué plus haut, les flux de CH<sub>4</sub> sont identiques indépendamment de l'origine de la MO (pergélisol ou couche active) et un test de student réalisé pour comparer les flux de CO<sub>2</sub> des mélanges de ces deux couches indiquent que ces deux groupes sont significativement identiques ( $p\_value = 0.295$ ). Même si plusieurs études indiquent que les émissions de CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub> sont influencées par la profondeur d'origine du sol ([Jiang et al., 2020](#); [Kim et al., 2012](#); [Liu et al., 2019](#); [Song et al., 2014](#)), cette hypothèse est rejetée dans le cas de notre expérimentation. De plus, rappelons qu'une étude menée par [Morgalev et al. \(2017\)](#) souligne l'activité métabolique prononcée des bactéries à l'interface entre la couche active et le pergélisol, ce qui correspond dans le cas de notre travail au mélange P3. Cette limite entre couche active et pergélisol est aussi le lieu d'une production plus importante de méthane comme démontré par une étude récente de [Jiang et al. \(2020\)](#) lors d'incubations anaérobies réalisées durant 55 jours sur des sols provenant de Chine et incubés à 5 °C. Cependant, ce potentiel de minéralisation plus important à la limite entre couche active et pergélisol n'est pas corroboré dans le cas de notre expérience par des productions plus importantes de CH<sub>4</sub> et/ou de CO<sub>2</sub> issues de ce mélange (P3).



**Figure 5 - 11** : Représentation sous forme de boxplot des différents flux ( $\text{nmol.g}^{-1}_{\text{sol.jour}^{-1}}$ ) de  $\text{CH}_4$  (**A**) et de  $\text{CO}_2$  (**B**) obtenu durant l'incubation, en fonction de la profondeur du mélange de sol incubé. « \* » indique les données considérées comme des données aberrantes (*i.e.* données dont la valeur est  $> Q_3 + 1,5\text{IQR}$  ou  $< Q_1 - 1,5\text{IQR}$ , voir chapitre 2, partie 1.2.5.7 pour plus de détails sur la représentation en boxplot). Les  $p\_values$  présentées correspondent à un test de type ANOVA réalisé en comparant les flux des différentes profondeurs.

Le **Tableau 5 - 3** présente les comparaisons réalisées grâce à un test de student, entre les flux de  $\text{CO}_2$  des mélanges. On note que les seules différences significatives sont obtenues entre le mélange P1 et les mélanges P2 et P6 ; entre le mélange P2 et le P5 ; et entre le mélange P5 et le P6. L'une des hypothèses de départ de cette expérience était la production

plus importante de CO<sub>2</sub> provenant du mélange de surface (P1) due à une composition plus riche en MO labile. Cette hypothèse ne semble pas être validée, du moins pas en totalité (voir **sous-section 5.2.4** concernant les perspectives pouvant apporter une réponse à cette question).

**Tableau 5 - 3** : Tableau présentant les *p*\_values des tests de student réalisés sur les flux de CO<sub>2</sub> entre les différents mélanges. « x » indique une *p*\_value > 0,05 (non significative).

<i>p</i> _value des tests de student sur les productions de CO <sub>2</sub>	P2 20-40 cm	P3 40-50 cm	P4 60-80 cm	P5 90-110 cm	P6 120-140 cm
P1 : 0-20 cm	0,024769	X	X	X	0,03999
P2 : 20-40 cm		X	X	0,006143	X
P3 : 40-50 cm			X	X	X
P4 : 60-80 cm				X	X
P5 : 90-110 cm					0,01421

Afin d'obtenir une idée de l'ampleur de production de GES de ce profil dans sa totalité, et donc de son feedback éventuel sur le réchauffement climatique, il faut convertir les flux de CH<sub>4</sub> en flux d'équivalent CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>-eq). Le CH<sub>4</sub> a un potentiel de réchauffement qui est de 34 fois celui du CO<sub>2</sub> sur une période de 100 ans (IPCC, 2013). Le potentiel de production de GES du profil est alors obtenu par addition des flux de GES (nmol CO<sub>2</sub>-eq.g<sup>-1</sup>sol.jour<sup>-1</sup>) obtenus sur 1 semaine de mesure (*i.e.* moyenne des 2 flux obtenus sur 1 semaine de mesure) de tous les mélanges à 4 périodes clés : *a*) au début de l'expérience (moyenne des productions aux jours 4 et 6), *b*) avant (moyenne des productions aux jours 18 et 20) et *c*) après le confinement (car comme discuté plus haut, certains flux de GES s'inversent durant cette période de confinement qui semble donc être très importante ; moyenne des productions aux jours 90 et 95) et *d*) en fin d'expérience (moyenne des productions aux jours 186 et 188). Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau 5 - 4**. On observe alors que la production de GES la plus élevée sur 1 semaine d'incubation est obtenue au début et à la fin de l'incubation où elle atteint entre 2000 à 3000 nmol CO<sub>2</sub>-eq.g<sup>-1</sup>sol.jour<sup>-1</sup>. Ces estimations ont tout de même beaucoup de limites, *i*) il faut noter que ce calcul ne prend pas en compte les parties du profil de sol, et plus particulièrement du pergélisol, qui n'ont pas été incubées (*i.e.* 50-60 cm, 80-90 cm et 110-120 cm), *ii*) il suppose que tous les gaz produits aux différentes profondeurs atteignent la surface sous leurs formes initiales (pas de recyclage du CH<sub>4</sub> en CO<sub>2</sub> par oxydation par exemple) et *iii*) que ces gaz atteignent la surface de manière « spontanée », sans délai dû au transport des gaz dans les différentes couches du sol (cf. perspectives concernant le transport des gaz dans les sols **sous-section 5.2.4**). Ainsi, les valeurs présentées dans le

**Tableau 5 - 4** ne peuvent s'appliquer qu'à cette expérience et ne sont pas généralisables telles qu'elles au milieu naturel.

**Tableau 5 - 4 :** Production de GES du profil (ensemble des niveaux incubés) en  $\text{nmol CO}_2\text{-eq.g}^{-1}\text{sol.jour}^{-1}$  - aux 4 périodes clés de l'incubation (début, pré-confinement, post-confinement et fin)

Périodes d'incubation	CH <sub>4</sub> , $\text{nmol CO}_2\text{-eq.g}^{-1}\text{sol.jour}^{-1}$	CO <sub>2</sub> , $\text{nmol CO}_2\text{-eq.g}^{-1}\text{sol.jour}^{-1}$	CH <sub>4</sub> et CO <sub>2</sub> , $\text{nmol CO}_2\text{-eq.g}^{-1}\text{sol.jour}^{-1}$
Début	13 ±24	2354 ±312	2367 ±336
Pré-confinement	10 ±1	745 ±442	755 ±443
Post-confinement	10 ±0	1941 ±743	1951 ±743
Fin	17 ±6	3055 ±1730	3072 ±1736

La production de CH<sub>4</sub> par dégradation anaérobie de la MO du profil de sol, issu d'une tourbière à pergélisol discontinu, est très faible par rapport à la production simultanée de CO<sub>2</sub> (moins de 1,5% du total de la somme des productions de CO<sub>2</sub> et de CH<sub>4</sub> en équivalent CO<sub>2</sub>, **Tableau 5 - 4**). Une des explications à la faible production de CH<sub>4</sub> dans les sols incubés peut-être la présence en grande quantité de Mn et de Fe dans les sols des tourbières à pergélisol, inhibant la méthanogenèse (Lipson et al., 2010; Neelson and Saffarini, 1994; van Bodegom et al., 2004) (voir *sous-section 5.2.4* concernant les perspectives sur ce sujet). Une autre explication à ces faibles productions de CH<sub>4</sub> est la réponse rapide de la communauté microbienne au dégel du pergélisol. En effet, une étude visant à observer l'évolution de la phylogénie microbienne et des gènes fonctionnels au cours du dégel du pergélisol a été menée par Mackelprang et al. (2011) et révèle qu'en moins d'une semaine à 5°C, les gènes impliqués dans les cycles du C changent et que le méthane précédemment accumulé dans le pergélisol est relargué puis consommé par les méthanotrophes (réduisant de 2/3 la production de méthane).

Les faibles productions de méthane issu du dégel du pergélisol dans le cas de cette expérience semblent indiquer que le CH<sub>4</sub> n'a pas un potentiel de réchauffement pouvant causer un changement climatique drastique. Ce constat a par ailleurs été fait par Schuur et al. (2015) dans une synthèse de l'impact du changement climatique sur le potentiel de rétroaction du carbone issu du pergélisol. Il indique que les émissions de GES dues au dégel du pergélisol sont majoritairement émises sous forme de CO<sub>2</sub> et il évoque la dichotomie existante entre la décomposition rapide aérobie et celle plus lente en condition anaérobie. Cette expérience préliminaire tend à montrer que la production de méthane en condition anaérobie est très négligeable par rapport à celle en dioxyde de carbone. De plus, le CH<sub>4</sub> dans

les tourbières à pergélisol peut provenir de 3 sources : *i)* de l'écosystème, par dégradation de MO récente et labile (pouvant être considérée comme une part de la respiration de l'écosystème) ; *ii)* de la dégradation du « vieux » carbone, issu de MO plus âgée et se situant plus en profondeur, généralement dans le pergélisol ; et finalement *iii)* de sources profondes, à la base du pergélisol ou plus en profondeur encore et issus de la formation thermogénique (Walter Anthony et al., 2012). Dans le cas de cette expérience, les dégradations du carbone récent (dégradation du C issu de la litière) et du carbone âgé (provenant de la tourbe de la couche active et du pergélisol) peuvent être à l'origine de la faible production de CH<sub>4</sub> observée. Et comme évoqué précédemment, ces faibles productions ont un potentiel de réchauffement climatique négligeable vis-à-vis des capacités de production de CO<sub>2</sub> en anaérobie. Ainsi, en milieu naturel la production de méthane de l'écosystème (hors litière « profonde » représentée dans notre expérience par l'enrichissement en sphaigne dans la tourbe du mélange de surface P1) et celle d'origine plus profonde pourraient constituer les sources les plus importantes de production de méthane vers l'atmosphère. De plus, il a été montré que l'augmentation des températures favorise les communautés bactériennes plutôt que les méthanogènes (Kim et al., 2012) ce qui pourrait, dans le futur, diminuer les productions de méthane vis-à-vis de celles en dioxyde de carbone.

#### ***5.2.4 Conclusion préliminaire et perspectives***

Cette expérience, malgré son caractère préliminaire, apporte quelques éléments de compréhension concernant le sujet de la production de GES d'un profil de sol issu d'une tourbière à pergélisol discontinu. On rappelle que les données obtenues ici, ainsi que les conclusions que l'on en tire, ne sont valables que dans le cas de cette expérience. De plus, la plupart de ces conclusions peuvent et doivent être vérifiées par la suite :

- Il ne semble pas exister de modèles d'évolution des flux de GES en fonction du temps (7 mois) qui dépendent de la profondeur d'origine du sol.
- La stabilisation apparente de certains flux en fin d'expérience ne permet pas d'affirmer avec certitude l'épuisement de la MO labile. En effet les 2 mois de lacune de mesures au début de l'expérience laissent un doute sur l'évolution des productions au cours de cette période.
- Les intervalles de confiance (95%) indiquent que la période de confinement (*i.e.* de 25 à 88 jours d'incubation) est une période clé durant laquelle les flux de GES

peuvent s'inverser et notamment en ce qui concerne les couches du sol proche de la limite entre la couche active et le pergélisol (P3 et P4). Afin de vérifier l'importance de cette période, l'expérience doit être réitérée.

- Dans les couches près de la limite couche active / pergélisol, le méthane est produit pendant 1 mois et simultanément le CO<sub>2</sub> est consommé. On suppose donc un recyclage du carbone par réduction du CO<sub>2</sub> durant cette période. Mais aucun argument ne permet pour l'instant de vérifier cela. Des analyses isotopiques des gaz produits pourraient permettre de déterminer les processus de formation du CH<sub>4</sub>. En effet, une valeur de  $\delta^{13}\text{C}$  comprise entre -110 et -60‰ indique une réduction du CO<sub>2</sub> alors qu'entre -70 et -30‰ on estime que le méthane provient du processus d'acétoclastie (Hornibrook et al., 2000; Sugimoto and Wada, 1993; Whiticar, 1999).
- Le pergélisol (P4, P5 et P6) ne produit pas plus de CH<sub>4</sub> ni de CO<sub>2</sub> que la couche active (P1 et P2). Nous avons émis l'hypothèse d'une production de GES plus prononcée du pergélisol car ce dernier est réputé pour contenir plus de méthanogènes et aussi car la couche active subie, avec les saisons, des périodes de dégradation régulière qui auraient pu permettre l'accumulation relative de MO labile dans le pergélisol. Il serait donc intéressant d'étudier la composition de la MO des différents mélanges incubés. Certains prélèvements réalisés au début de l'expérience sont destinés à ce types d'analyses (Rock-Eval, composition des acides organiques légers, rapport C/N). Ces échantillons sont fixés et stockés, ils pourront donc être analysés par la suite. Au début de l'expérience, des Ecoplates permettant l'analyse de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne ont été réalisées en conditions anaérobies (utilisation d'une boîte à gants dont l'air ambiant a été remplacé par du diazote). Ces types de micro-plaques (les Ecoplates) peuvent être utilisés à la fois en aérobie et en anaérobie. Dans le cas de notre expérience, les mesures effectuées sur les Ecoplates en conditions anaérobies n'ont montré aucun résultat interprétable. Ainsi, il serait utile de remplacer cette analyse par une analyse visant à déterminer la diversité taxonomique de la communauté plutôt que la diversité fonctionnelle, en utilisant par exemple des analyses basées sur l'ADN ou l'ARN (ARNr 16S).



- L'estimation du potentiel de production de GES (en  $\text{nmol CO}_2\text{-eq.g}^{-1}_{\text{sol}}\cdot\text{jour}^{-1}$ ) du profil à différents temps d'incubation indique que le méthane représente moins de 1,5% des GES (à base de C) et le  $\text{CO}_2$  environ 98,5%.
  - Les faibles productions de  $\text{CH}_4$  peuvent être dues à la rapide réponse de la communauté microbienne au dégel du pergélisol, ou bien à l'inhibition de la méthanogenèse par la présence de fer et de manganèse. Afin de vérifier cette dernière hypothèse, il est nécessaire de doser ces éléments dans les sols utilisés. Et c'est dans ce but, qu'avant incubation, des aliquotes ont été récoltées afin de réaliser une quantification de ces éléments. Ces aliquotes sont fixées et stockées et pourront être analysées afin d'affirmer ou de réfuter cette hypothèse.
  - Ces faibles productions indiquent : i) qu'en milieu naturel, la respiration de l'écosystème ainsi que le  $\text{CH}_4$  d'origine profonde pourrait-être les sources majoritaires de production de méthane dans les tourbières à pergélisols discontinu ; et ii) que la dégradation de la MO lors du dégel du pergélisol n'a que peu d'impact sur ces émissions.
  - Il faut noter que ces estimations de production potentielle de GES par le profil ne sont pas applicables comme telles au système naturel pour plusieurs raisons : toutes les profondeurs du pergélisol ne sont pas prises en compte, tout comme l'oxydation du  $\text{CH}_4$  en  $\text{CO}_2$  lors de la remontée des gaz vers la surface et ou encore les processus et les délais de ces remontées/transports. Néanmoins, ces estimations pourraient être améliorées en leur appliquant les 4 différentes lois qui régissent le transport des gaz dans les sols (*i.e.* diffusion, convection, ébullition et transport *via* le système racinaire).
- Finalement, la majorité de la littérature présente les flux de GES en  $\text{nmol.gC}^{-1}_{\text{sol}}\cdot\text{jour}^{-1}$  et donc afin de pouvoir comparer nos données, il est nécessaire de déterminer la quantité de carbone contenue dans 1 gramme de sol incubé.



# ***Conclusion et perspectives***

Cette thèse a eu pour but de déterminer les facteurs pouvant influencer la biogéochimie du cycle du carbone des tourbières à pergélisol riche en MO. Pour ce faire, nous avons, par le biais d'observations sur le terrain et d'expériences *in-situ* (**chapitre 2**) et en laboratoire (**chapitres 3 à 5**), étudié l'effet : *i*) du type de plans d'eau (**chapitre 2, section 2.1**) ; *ii*) des variations nycthémérales (**chapitre 2, section 2.2**) ; *iii*) du continuum hydrologique (**chapitre 3**) ; *iv*) des cycles de gels-dégels des eaux (**chapitre 4**) ; *v*) de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes (**chapitre 5, section 5.1**) ; ainsi que *vi*) de la profondeur d'origine de la tourbe (**chapitre 5, section 5.2**) sur la dégradation de la MO dans les eaux et les sols de ces tourbières.

Si les approches et techniques utilisées dans cette thèse ne sont pas novatrices, il est tout de même important de souligner que dans le cadre de l'étude d'un sujet aussi vaste que celui-ci, qui peut être la source de grands bouleversements climatiques et dont la répartition géographique des zones impactées est considérable, l'application de protocoles reconnus et éprouvés sur plusieurs sites d'étude est une nécessité absolue à la compréhension des processus de dégradation de la MO dans ces régions. Et c'est dans ce cadre que s'inscrit cette thèse au sein de laquelle des expérimentations multiples et variées, mais surtout interdisciplinaires ont été réalisées sur 3 sites d'étude répartis entre l'Europe et l'Asie.

Les résultats des différents prélèvements et analyses réalisés sur les plans d'eau des terrains de Sibérie occidentale et du Nord de la Suède (**chapitre 2, section 2.1**) montrent que dans ces tourbières à pergélisol discontinu, il existe une « hiérarchisation » des plans d'eau qui influence les paramètres physico-chimiques de l'eau. Les eaux transitant du supra-pergélisol, dans les fissures des sols, jusqu'aux rivières en passant par les lacs thermokarstiques voient leurs pH augmenter et à l'inverse leurs pCO<sub>2</sub> et concentrations en COD diminuer. Le COD se répartit préférentiellement dans la fraction colloïdale de faible poids moléculaire (LMW<sub>3-50kDa</sub>), puis dans la fraction purement dissoute (LMW<sub><3kDa</sub>) et enfin dans la fraction colloïdale à haut poids moléculaire (HMW<sub>50kDa-0,45µm</sub>).

L'expérience de suivi des cycles nycthéméraux, menée en 2018 en Sibérie occidentale et décrite dans le **chapitre 2 (section 2.2 ; Figure de Conclusion - 1)**, indique qu'il n'y a pas d'impact de ces cycles sur certains paramètres physico-chimiques comme le pH, les concentrations en COD, en nutriments, en acides carboxyliques et en éléments majeurs et

traces dans les eaux acides et humiques des lacs thermokarstiques. On observe à l'inverse que ces cycles influencent fortement les flux de CO<sub>2</sub> émis par les lacs avec un maximum de production après le lever du soleil, lorsque la température des eaux de surface est la plus basse, et un minimum de production atteint en fin d'après-midi lors du pic de température journalier. Dans le cas de petits lacs riches en MO, le pic de production de CO<sub>2</sub> en fin de nuit peut atteindre 2 à 3 fois les productions observées pendant la journée. Quant aux grands lacs thermokarstiques, plus pauvres en MO, ils constituent un puits de C durant la journée et une source durant la nuit. Si ces observations ont déjà été faites ou bien même envisagées par d'autres travaux, il est tout de même nécessaire de rappeler que les mesures de production de GES réalisées sur le terrain consistent très souvent en une mesure unique durant la journée et peuvent donc, selon nos résultats, totalement biaiser l'interprétation finale du bilan de GES des tourbières arctiques.

En abordant le sujet du continuum hydrologique (CH), nous avons pu déterminer la variabilité des plans d'eau des tourbières arctiques dans lesquelles transite la MO depuis les fissures des sols jusqu'aux grandes rivières se déversant dans l'océan Arctique (**chapitre 3 ; Figure de Conclusion - 1**). En particulier, nos données montrent que le long d'un CH, la vitesse de dégradation de la MO diminue et que la biodégradabilité de cette MO augmente. Elle suggère aussi que la majorité du CO est biodégradé avant même d'atteindre les eaux de surfaces (*i.e.* dans le supra-pergélisol).

L'étude des cycles de gels-dégels abordée grâce à des incubations de lixiviats de sols et de végétations ainsi que des eaux naturelles (**chapitre 4 ; Figure de Conclusion - 1**) montre qu'ils ont une très faible influence sur la dégradation de la MO et sur la complexation entre la MO et les métaux de la plupart des eaux de surface des tourbières arctiques. Seuls les plans d'eau de grandes ampleurs (grand lac thermokarstique et rivière) semblent montrer une augmentation de la complexation entre MO et métaux avec les cycles. Cependant, il est à noter que le gel total et répété de ses plans d'eau est très peu probable dans la nature. Ceci nous amène à conclure que le processus de cryodégradation du COD est négligeable.

Si la plupart des résultats de cette étude, récapitulés ci-dessus, rejoignent les constats actuellement faits par la communauté scientifique sur le sujet de la dégradation de la MO dans les tourbières à pergélisol, il est aussi des résultats qui vont à l'encontre des faits établis par cette même communauté. En effet, il est couramment avancé que l'augmentation des

températures dans ces régions peut entraîner une augmentation de la biodégradation dans les eaux des lacs thermokarstiques, notamment par la stimulation de l'activité microbienne. Or au cours de cette thèse (**chapitre 5, section 5.1 ; Figure de Conclusion - 1**), une expérience d'incubation aérobie réalisée à différentes températures (4 et 25°C) montre que dans le cas du lessivage et de la biodégradation de cette MO par les bactéries hétérotrophes issues des eaux des lacs thermokarstiques, ces variations de température n'ont aucun impact majeur et sont similairement efficaces.

Par ailleurs, des résultats préliminaires de l'incubation anaérobie du profil de sol menée à 4°C (**chapitre 5, section 5.2 ; Figure de Conclusion - 1**) semblent indiquer que la tourbe nouvellement dégelée du pergélisol n'est pas une source beaucoup plus importante de CH<sub>4</sub> et de CO<sub>2</sub> comparée à celle de la couche active, contrairement à ce qui a pu être suggéré jusqu'à présent.

A partir des différentes études menées au cours de cette thèse, certains grands points et constats sont à prendre en considération afin d'améliorer les modélisations du climat dans les régions arctiques, notamment :

- Les études menées sur le terrain et traitant des émissions de CO<sub>2</sub> des plans d'eau doivent au minimum être réalisées sur 2 mesures journalières : une au lever du soleil, permettant d'obtenir le maximum de la production et une autre durant la fin d'après-midi afin d'obtenir cette fois-ci le minimum de production de CO<sub>2</sub>.
- La forte variabilité spatiale des plans d'eau dans la nature est source de grande hétérogénéité de vitesse de dégradation de la MO et de biodégradabilité de cette dernière. Afin d'obtenir la réponse adéquate de vitesse de dégradation, les données utilisées doivent être celles des plans d'eau situés au début du continuum et à l'inverse si l'on s'intéresse au maximum de biodégradabilité des eaux, il est nécessaire d'observer les ruisseaux et les rivières.
- Les périodes de transition (début d'automne et fin du printemps) sont des périodes essentielles et doivent faire l'objet d'études plus nombreuses et être prises en compte par les modèles climatiques comme étant des périodes actives de la biodégradation de la MO.

Il faut tout de même noter que, comme dans toutes études, les résultats obtenus ici ont des limites, car comme nous l'avons précisé en introduction, cette étude n'a pas abordé certains paramètres physico-chimiques et chimiques comme les températures rencontrées en saison hivernale. Cette étude se borne au CO dissous et n'aborde pas le sujet du CO particulaire, ou bien encore du C inorganique, ni des sources de productions primaires de ce C (terrestres ou aquatiques). Par ailleurs, les zones étudiées se limitent à des régions à pergélisol discontinu et nous n'abordons pas les autres types de pergélisols (continus et sporadiques). Enfin, le réchauffement climatique dans un système aussi complexe qu'une tourbière n'influence pas que le cycle du C mais aussi celui de l'azote, du phosphore et du soufre qui ne sont pas abordés ici.

En dehors des aspects non étudiés au cours de cette thèse, il est aussi des limites pratiques, volontaires ou non, liées aux différentes expérimentations : *i)* l'étude de la dégradation de MO du continuum hydrologique a duré de 15 jours à 30 jours du fait du temps limité alloué à chacune des missions; *ii)* certaines analyses non réalisées lors d'expérimentations se sont révélées pouvoir être utiles après l'interprétation des résultats, comme dans le cas du gel-dégel des eaux, où une ultrafiltration des prélèvements aurait été nécessaire afin de déterminer le rôle exact de la fraction colloïdale sur la complexation entre la MO et les métaux; *iii)* l'étude menée sur l'ajout des bactéries hétérotrophes issues des lacs thermokarstiques a été réalisée en utilisant une monoculture de bactérie cultivable et pas toute la communauté microbienne de ces milieux ; et finalement *iv)* l'incubation du profil de sol n'inclut pas tout le profil pour des raisons de logistique (il manque 30 cm de ce dernier provenant du pergélisol) et il y a une lacune de mesure de 2 mois au début de l'expérimentation.

Compte tenu des résultats obtenus au cours de cette thèse et des limites que nous venons d'exposer, plusieurs perspectives nous semblent nécessaires mais aussi très pertinentes afin d'approfondir cette étude, certaines de ces perspectives ont déjà été abordées dans des expériences préliminaires :

- Les bactéries hétérotrophes ont été l'objet d'étude pour une grande partie de cette thèse. Mais on peut se demander quel pourrait-être l'apport des cyanobactéries dans ces milieux aquatiques. Dans ce sens, des expériences ont été menées sur une bactérie invasive : *Microcystis aeruginosa* afin de déterminer sa possible prolifération dans

l'eau des lacs de la Russie Européenne (toundra Bolshezemelskaya) (**Figure de Conclusion - 1**). Les résultats montrent que celle-ci est capable de proliférer dans ces eaux riches en MO. Une étape supplémentaire serait de mettre cette souche cyanobactérienne en présence d'une bactérie hétérotrophe en milieu contrôlé (microcosme). Cela permettrait de déterminer si cette dernière est capable de dégrader la MO issu de la cyanobactérie, dans quelles proportions et si la MO cyanobactérienne est alors « privilégiée » par les hétérotrophes comme source de carbone au détriment de la MO autochtone du lac.

- Un aspect non abordé durant cette thèse est celui de la caractérisation de la MO et notamment celle des végétaux présents sur les sites d'études et qui sont la base de la MO composant la tourbe sous-jacente. Au travers d'une collaboration avec le laboratoire Métis de l'Université de Paris Sorbonne, des expériences d'incubations ont été menées en toute fin de thèse. Celles-ci sont composées de lessivât de MO végétale (provenant du site de Khanymey en Sibérie) auxquelles a été ajoutée une souche de bactérie présente dans les sols de la région Sibérienne (*Pseudomonas* sp.) (**Figure de Conclusion - 1**). Les résultats de cette expérience devraient permettre une meilleure compréhension du processus de biodégradation en fonction du type de MO.

D'autres perspectives restent encore à explorer :

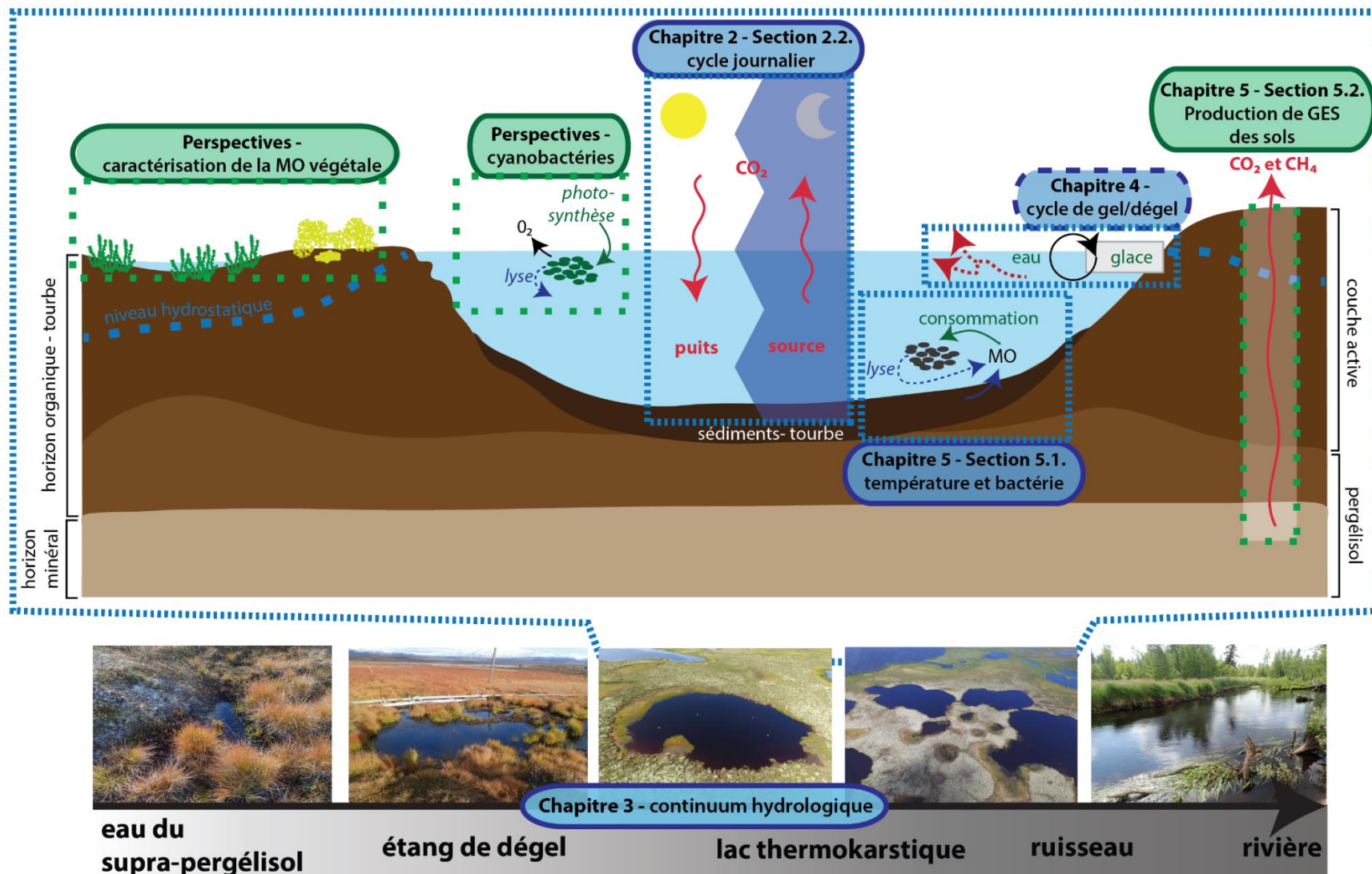
- Dans le cas du suivi journalier des émissions de CO<sub>2</sub> qui n'a été réalisé que sur 2 lacs thermokarstiques, il serait intéressant de faire ce suivi sur la totalité d'un continuum hydrologique (dépression, étang de dégel, lac thermokarstique immature et mature, lac de type Khasyrey, ruisseau et rivière) afin de déterminer si les vitesses de biodégradation et les biodégradabilités variables en fonction du CH (observées dans le **chapitre 3** de cette thèse) se répercutent sur les vitesses et les quantités de CO<sub>2</sub> émis.
- Comme indiqué ci-dessus, l'expérience de gel-dégel du chapitre 4 nécessiterait d'être recommencée (uniquement dans le cas des lacs thermokarstiques ou des rivières car ils sont les seuls à être affectés par ces cycles) en y ajoutant des étapes d'ultrafiltrations des eaux permettant de déterminer le rôle des fractions colloïdales dans la complexation MO-métaux.
- Une perspective évidente du **chapitre 5 section 5.1** est l'analyse des différentes aliquotes prélevées avant incubation du profil pour les mesures des concentrations en



COD, CID, CIP, Fe et Mn, du rapport C/N, des isotopes  $\delta^{13}\text{C}$  –  $\delta^{15}\text{N}$  et d'une analyse Rock-Eval.

Cette thèse nous permet aussi d'ouvrir de nouveaux horizons à ce sujet d'étude qui reste très vaste et de proposer des protocoles expérimentaux qui n'ont pas encore été utilisés ou validés :

- On peut se demander si la surface spécifique de la tourbe pouvant être biodégradée à un effet sur les vitesses de biodégradation de celle-ci et sur les quantités de MO dégradée. Afin de répondre à cette question, il serait utile de réaliser une expérience de biodégradation de la MO en utilisant de la tourbe ayant des propriétés chimiques similaires (composition en acides organiques et aromaticité similaire) mais des surfaces spécifiques différentes.
- Afin de déterminer quelles sont les sources de MO biodégradées préférentiellement, une expérience dans laquelle différentes sources de CO, *i.e.* provenant de la végétation terrestre (lichen et sphaigne, arbuste nain), de la végétation aquatique (plante aquatique, phytoplancton et cyanobactéries) et des sols (tourbe de la couche active et du pergélisol), pourraient être marquées et incubées en proportions égales en présence de bactéries de la communauté microbienne hétérotrophe du sol et/ou de celle des eaux des lacs thermokarstiques.
- Finalement, une étude pourrait être menée sur la répartition et la proportion des différents types de végétation à l'échelle de la tourbière. En effet, lors de la mission de terrain menée en Sibérie, les collègues Russes ont utilisé un drone afin de récolter des images aériennes de la tourbière. Ces dernières montrent clairement une différence de couleurs pouvant être imputée directement au type de végétation dominante. Ainsi, par un traitement automatisé de ces images obtenues par drone ou par satellite (à une haute résolution) il serait possible de déterminer à la fois la répartition du type de végétation par rapport à la distribution des différents plans d'eau et de la microtopographie. Cela permettrait de donner les proportions des différents types de végétation afin de déterminer la dominance floristique des tourbières, ce qui apporterait un indice considérable sur la composition de la litière sous-jacente et donc sur le type de MO qui peut en être extraite.



**Figure de Conclusion - 1** : Schéma représentant les différents aspects abordés dans cette thèse (en encadré bleu en pointillé : l'article en cours de révision ; en encadré bleu et trait plein : les articles publiés) et les perspectives à court-terme de celle-ci (en encadré vert).

# Liste des figures

- Figure 0 - 1 :** Schéma de la rétroaction positive pouvant être engendrée par de dégelé du pergélisol et la dégradation de la MO sur le réchauffement climatique. Ce schéma résume les 5 étapes de cette rétroaction (indiquées par les hexagones gris). Les flèches orange indiquent le devenir de la MO non dégradée (trait en pointillés) et dégradée (trait plein)..... **3**
- Figure 0 - 2 :** Schéma des paramètres étudiés dans les différents chapitres de cette thèse, pouvant influencer le cycle de rétroaction positive de la dégradation de la matière organique sur le climat, dans les régions de tourbières arctiques. .... **6**
- Figure 1 - 1:** Diagramme ternaire délimitant les distributions climatiques des écosystèmes de tourbières (A) mondiales (Hartshorn, 1988) ; (B) boréales (Wieder et al., 2006) et (C) nordiques (adapté de Wieder et al., 2006)..... **11**
- Figure 1 - 2 :** Schéma de la composition générale de la MO des sols et de l'influence des micro-organismes (adapté de Essington (2015)). Abréviations françaises : « MO » = Matière Organique ; MOS = Matière Organique du Sol ; abréviations anglaises : « LMW » = Low Molecular Weight ; « HMW » = High Molecular Weight. Les encadrés et flèches vertes indiquent l'utilisation de la MO par des micro-organismes. .... **14**
- Figure 1 - 3:** Répartition des différents types de pergélisol sur l'hémisphère Nord. Carte adaptée à partir d'Huissteden (2020)..... **18**
- Figure 1 - 4:** Schéma d'un sol de tourbière présentant un horizon organique et un horizon minéral, soumis à la présence d'un pergélisol, d'une couche active et de différents types de taliks (modifié d'après Huissteden, 2020). .... **18**
- Figure 1 - 5:** Chrono-séquence de la formation de lacs thermokarstiques. Modifié d'après Kirpotin et al. (2009) et Pokrovsky et al. (2011)..... **20**
- Figure 1 - 6:** Schéma des différentes réactions biochimiques produisant des GES (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O et CH<sub>4</sub>) en fonction du potentiel redox de la tourbe. Inspiré d'un tableau d'Huissteden (2020). Echelle verticale non représentative. .... **23**
- Figure 1 - 7:** Schéma des apports, stockages et transferts de carbone dans les lacs thermokarstiques. Echelle verticale non représentative. .... **25**
- Figure 1 - 8:** Protocole de prélèvement gazeux sur le terrain. .... **33**
- Figure 1 - 9:** Photo et schéma d'une chambre flottante lors des mesures de production de CO<sub>2</sub> des lacs. .... **36**
- Figure 1 - 10:** Images en Microscopie Electronique à Transmission (MET) de la souche bactérienne *Iodobacter* sp..... **37**
- Figure 1 - 11:** Schéma des deux types d'incubations réalisées dans le cadre de l'étude de l'impact de la température et de l'ajout de bactéries hétérotrophes sur le relargage et la biodégradation de la MO, ainsi que les conditions d'incubations et les différents prélèvements et analyses réalisés. A : incubation de MOD et B : incubation de MOP. **41**

- Figure 1 - 12 :** Schéma du profil de sol utilisé pour l'incubation anaérobie. .... 44
- Figure 1 - 13 :** Schéma du découpage des aliquotes des carottes de tourbe destinées aux analyses Rock-Eval et Fe-Mn. .... 45
- Figure 1 - 14 :** Photo des incubations anaérobies du profil de sol. .... 47
- Figure 1 - 15:** À gauche: photo du microscope électronique à transmission (MET ; JEOL JEM-1400 HC équipé d'une caméra Gatan Orius SC1000B CCD) de la Plateforme de Microscopie électronique intégrative METi (Université Toulouse 3) à droite: exemple de photo MET de tourbe..... 48
- Figure 1 - 16 :** Schéma d'une représentation en boxplot des données. .... 64
- Figure 2 - 1:** Localisation des sites d'étude (carte modifiée à partir de Schuur et al. (2008)). 68
- Figure 2 - 2 :** Carte de la localisation des grands plans d'eaux prélevés sur le terrain en Suède (gauche) et en Sibérie (droite). Tous les points d'eaux prélevés en Sibérie ne sont pas répertoriés sur cette carte mais la liste de tous ces plans d'eaux est reportée dans le **tableau 2 – 1**..... 72
- Figure 2 - 3 :** Concentration en COD sur le site de Khanymey et d'Abisko, des différents types de plans d'eau prélevés, présentée sous forme de boxplot. La boîte contient 50 % des données et l'épaisse barre horizontale indique la médiane des données, les moustaches s'étendent jusqu'au données les plus extrêmes. .... 77
- Figure 2 - 4 :** Répartition des concentrations en COD des eaux du site de Khanymey en fonction de la superficie et de la catégorie des plans d'eau. La filtration (0,45  $\mu\text{m}$ ) et les ultrafiltrations (100, 50, 3 et 1 kDa) des eaux sont indiquées par les différentes colonnes en tons de gris. Pour certaines eaux, des données sont manquantes pour les filtrations à (\*) 0,45  $\mu\text{m}$ , (\*\*) 100 kDa et (\*\*\*) 100 et 50 kDa. Les barres d'erreurs représentent l'erreur liée à la mesure (3 %). .... 78
- Figure 2 - 5 :** Boxplots de l'indice SUVA<sub>254</sub> et du ratio E4:E6 dans les différents groupes d'eaux ultrafiltrées des différents types de plans d'eau du site de Khanymey. .... 81
- Figure 2 - 6 :** Concentration en Fe en fonction des concentrations en Al des eaux prélevées et filtrées à 0,45  $\mu\text{m}$ . Les cercles représentent les eaux de Khanymey et les carrés celles d'Abisko. Les couleurs de remplissage (cf., angle supérieur gauche du graphique) des points (cercles ou carrés) indiquent le type de plan d'eau. La ligne noire est la droite de régression linéaire appliquée aux données présentées et les valeurs des paramètres (équation, R<sup>2</sup> et pvalue) de cette régression sont données dans le coin en bas à droite du graphique..... 85
- Figure 2 - 7 :** Répartition des concentrations en ETM (Fe, Co, Ni, Al et Si) dans les différentes fractions. Les fractions colloïdales sont représentées par les boxplots de couleurs grises (gris foncé pour les HMW<sub>50 kDa - 0,45  $\mu\text{m}$</sub>  et gris clair pour les LMW<sub>3-50 kDa</sub>) et la fraction LMW<sub>>3 kDa</sub> est représentée par les boxplots de couleur blanche. La pvalue indiquée en haut de chaque graphique est obtenue à partir d'un test statistique de type test de student entre les groupes d'eaux ultrafiltrées colloïdales ayant une taille > à 3 kDa et ceux ayant une taille < à 3 kDa..... 86
- Figure 2 - 8:** Air and water temperature and direct solar radiation (DSR) (A), pH (B), DOC concentration (C), and SUVA (D) variations in surface water measured in the two lakes

of Western Siberia (Trisino and Chernoe). The shadowed area represents night-time observations (same for Figs. 2 and 3).....	101
<b>Figure 2 - 9 :</b> Diurnal pattern of pCO <sub>2</sub> (A) and CO <sub>2</sub> flux (FCO <sub>2</sub> ) (B) measured in the two lakes of Western Siberia. The negative correlations between pCO <sub>2</sub> and water temperature (C) and FCO <sub>2</sub> and water temperature (D) are significant at p < 0.01. The error bars represent the s.d. of six (Trisino) and four (Chernoe) chamber measurements across the lakes.....	103
<b>Figure 2 - 10:</b> Diurnal pattern concentration of dissolved CH <sub>4</sub> measured in the two lakes of Western Siberia. The uncertainties of CH <sub>4</sub> concentration are within the symbols size. They stem from 2 to 3 individual measurements in various part of the lake at each time of the day.....	104
<b>Figure 3 - 1 :</b> Schematic of a hydrological continuum in the discontinuous permafrost region. The hydrological continuum represents a progression of wetland water habitats from gravitational soil water in soil pits and cracks to small ponds, fens, lakes, streams and rivers. While the soil solutions represent the upper end of the continuum the rivers are the receiving system at the other end of the transition. Note that either the vertical or horizontal scales are not representative.....	119
<b>Figure 3 - 2 :</b> DOC concentration (mg L <sup>-1</sup> , A), BDOC (%), SUVA (L mg C <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> , C) of the Khanymey (.1) and Stordalen (.2) hydrological continuum; and FI evolution of the Stordalen continuum during incubation time (D). Note that the total incubation time is 30 days for Khanymey continuum and 15 days for Stordalen continuum. ....	125
<b>Figure 3 - 3 :</b> The removal rate of dissolved organic carbon (RDOC <sub>15</sub> ) of waters along the hydrological continuum (HC) after 15 days of incubations (bars and left y-axes). The filled circles show the biodegradable DOC (BDOC <sub>15</sub> ) after 15 days of incubations from the same HC. The waters are from 15 locations across two HC's: one in northern Sweden (Stordalen; light grey fill for circle and bars) and one in western Siberia (Khanymey; dark gray for circle fill and bars). The sites are represented starting from the left with the upper end of the HC and the receiving systems to the right (see <b>Figure 3 - 1</b> ). The error bars denote one standard deviation. ....	126
<b>Figure 3 - 4 :</b> Biplot of the individual PCA on waters from Stordalen (circle) and Khanymey (square) hydrological continuum and variable correlation plot (black arrow). ....	129
<b>Figure 3 - 5 :</b> Left axis: Calculated potential CO <sub>2</sub> fluxes (mean ± SD) emitted by biodegradation (RCO <sub>2</sub> ) of waters from the Khanymey (black circles) and Stordalen (grey squares) hydrological continuum. Right axis: CO <sub>2</sub> emissions (mg C m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> , log scale) field-based estimated from other studies in Khanymey region (dark grey boxplot) for rivers (Serikova et al., 2018) and thermokarst lakes (Serikova et al., 2019) ; and in thaw ponds from the Stordalen region (light grey boxplot, Kuhn et al. (2018)). The box encloses 50% of the data and the horizontal bar marks the median. Whiskers extend to the outermost data-points. * No outermost data-points are given for those studies. ** Negative values for the minimum outermost data-point.....	134
<b>Figure 4 - 1 :</b> DOC concentration during FTC for each type of waters incubations. "*" indicates the replicate for which data is considered as outliers by boxplots analyses.....	153

- Figure 4 - 2 :** Percent variation ( $\Delta$ , %) of DOC quantity and quality parameters (DOC concentration, SUVA<sub>254</sub>, E2:E4 ratio and WAMW) between final (FTC 9) and initial (FTC 0) steps of the freezing-thawing experiment. Error bars presented here reflect the standard deviation of replicates. .... **155**
- Figure 4 - 3 :** Percent variation of trivalent hydrolysates (Al, LREE and HREE), Macro- and Micro-nutrients (Fe, P, and Mn) and toxicant (As) concentrations between the last and the initial stage of FTC ( $\Delta$ FTC0-9). Vertical dashed lines indicate variations of 5 and 10% (under and above 0). Errors bars represent the variation between replicates. .... **156**
- Figure 4 - 4 :** The molar ratio of C<sub>org</sub> (A) to Al and (B) to Fe for the Pechora River substrate, and the molar ratio of C<sub>org</sub> (C) to Fe for the thermokarst lake in the course of FTC. Error bars represent the variation between replicates. .... **157**
- Figure 5 - 1 :** Schematics of frozen peat leachate (FPL; A) and solid frozen peat (SFP; B) leachate incubations with the various analyses performed on each sample. .... **175**
- Figure 5 - 2 :** Dissolved Organic Carbon (DOC) of solid frozen peat (SFP, A, B and C) and frozen peat leachate (FPL, D, E and F), Biodegradable Dissolved Organic Carbon (% BDOC) of FPL (G, H and I) over incubation time at 4 °C (A, D and G), 25 °C (B, E and H) and 45 °C (C, F and I). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines). Note that the SFP and FPL experiments did not last the same duration. Most of the error bars are smaller than the symbol size. The negative BDOC in FPL experiments at 45 °C might be due to bacterial cell lysis and DOM production (see **partie 5.1.6.1-b**). .... **180**
- Figure 5 - 3 :** Temporal evolution of SUVA<sub>254</sub> during incubation of solid frozen peat (SFP; A) and frozen peat leachate (FPL; B). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines). .... **181**
- Figure 5 - 4 :** Temporal evolution of CFU (log scale) during incubation of solid frozen peat (SFP; A) and frozen peat leachate (FPL; B). These figures show the evolutionary trend of control incubations (dotted lines) and added heterotrophic bacteria incubations (solid lines). .... **184**
- Figure 5 - 5 :** Percentage of richness (H) loss in solid frozen peat (SFP) experiment between day 0 and day 29 of incubation for each type of consumed substrates (hatched columns = controls, fill columns = with added heterotrophic bacteria, blue columns at 4 °C, green at 25 °C and red at 45 °C incubations). .... **185**
- Figure 5 - 6 :** TEM images of solid frozen peat (SFP) before incubation (A) and TEM images (B.1, C.1 and D.1) of SFP after 29 days of incubation at 25 °C (left panels). The right panels (B.2, C.2 and D.2) represent schematic interpretations of TEM images. .... **187**
- Figure 5 - 7 :** Schéma présentant l'origine et la composition générale des mélanges de sols (P1 à P6) incubés en condition anaérobie. .... **203**
- Figure 5 - 8 :** Flux des GES (CH<sub>4</sub> sur la colonne de gauche et CO<sub>2</sub> sur la colonne de droite ; en nmol.g<sup>-1</sup><sub>sol</sub>.jour<sup>-1</sup>) en fonction du temps d'incubation (jours). Mélanges incubés aux profondeurs suivantes : 0-20 cm (P1, A et B), 20-40 cm (P2, C et D) et 40-50 cm (P3, E et F). Chaque point représente une valeur de flux calculée entre 2 mesures de

concentrations de GES, les barres d'erreurs horizontales représentent le laps de temps écoulé entre ces 2 mesures de concentrations. Les barres d'erreurs verticales correspondent à l'écart-type entre les réplicats. Les lignes noires représentent les régressions réalisées sur les données et les aires grises indiquent l'intervalle de confiance des données à 95%. La zone orangée indique la période de non-mesure due au confinement..... **206**

**Figure 5 - 9 :** Flux des GES ( $\text{CH}_4$  sur la colonne de gauche et  $\text{CO}_2$  sur la colonne de droite ; en  $\text{nmol.g}^{-1}_{\text{sol.}}\text{jour}^{-1}$ ) en fonction du temps d'incubation (jours). Mélanges incubés aux profondeurs suivantes : 60-80 cm (P4, **A** et **B**), 90-110 cm (P5, **C** et **D**) et 120-140 cm (P6, **E** et **F**). Chaque point représente une valeur de flux calculée entre 2 mesures de concentrations de GES et les barres d'erreurs horizontales représentent le laps de temps écoulé entre ces 2 mesures de concentrations. Les barres d'erreurs verticales correspondent à l'écart-type entre les réplicats. Les lignes noires représentent les régressions réalisées sur les données et les aires grises indiquent l'intervalle de confiance des données à 95%. La zone orangée indique la période de non-mesure due au confinement..... **207**

**Figure 5 - 10 :** Processus métaboliques régissant les cycles de  $\text{CH}_4$  et  $\text{CO}_2$  en conditions anaérobies, par production et consommation corrélée de ces deux GES. Ce schéma est adapté à partir d'une illustration originale d'Eilrich and Steinmann (2003)..... **208**

**Figure 5 - 11 :** Représentation sous forme de boxplot des différents flux ( $\text{nmol.g}^{-1}_{\text{sol.}}\text{jour}^{-1}$ ) de  $\text{CH}_4$  (**A**) et de  $\text{CO}_2$  (**B**) obtenu durant l'incubation, en fonction de la profondeur du mélange de sol incubé. « \* » indique les données considérées comme des données aberrantes (i.e. données dont la valeur est  $> Q_3 + 1,5\text{IQR}$  ou  $< Q_1 - 1,5\text{IQR}$ , voir chapitre 2, partie 1.2.5.7 pour plus de détails sur la représentation en boxplot). Les p\_values présentées correspondent à un test de type ANOVA réalisé en comparant les flux des différentes profondeurs..... **210**

**Figure de Conclusion - 1 :** Schéma représentant les différents aspects abordés dans cette thèse (en encadré bleu à pointillées : l'article en cours de révision ; en encadré bleu et trait plein : les articles publiés) et les perspectives à court-terme de celle-ci (en encadré vert).  
..... **224**





# Liste des tableaux

<b>Tableau 1 - 1:</b> Caractéristiques des 5 sub-zones définies par la végétation au Nord de la limite des arbres (d'après Huissteden (2020)). * températures déduites des données présentées par Huissteden (2020).....	<b>15</b>
<b>Tableau 1 - 2:</b> Détails des analyses de l'expérience de biodégradation d'un continuum hydrologique.....	<b>42</b>
<b>Tableau 1 - 3:</b> Equations des différents indices calculés à partir des absorbances et fluorescence des eaux ( $SUVA_{254}$ , % d'aromaticité, ratio E2:E3, ratio E2:E4, ratio E4:E6, MA, WAMW et FI).....	<b>50</b>
<b>Tableau 1 - 4 :</b> Récapitulatif des différentes mesures de GES et calculs effectués durant cette thèse en fonction de l'échantillon et de leurs utilités. ....	<b>53</b>
<b>Tableau 1 - 5 :</b> Liste de packages R utilisés pour chaque tests statistiques. ....	<b>60</b>
<b>Tableau 2 - 1 :</b> Paramètres physico-chimiques et biologiques des eaux prélevées et filtrées à 0,45 $\mu\text{m}$ sur les terrains de la Sibérie et de la Suède.....	<b>73</b>
<b>Tableau 2 - 2 :</b> Moyenne des pourcentages de concentration en COD des différents groupes d'ultrafiltration ( $HMW_{50\text{ kDa} - 0,45\ \mu\text{m}}$ , $LMW_{3-50\text{ kDa}}$ et $LMW_{<3\text{ kDa}}$ en %) par rapport au COD total (concentrations à 0,45 $\mu\text{m}$ ) de chaque type de plans d'eau (étang, lac thermokarstique et grand lac thermokarstique) et de tous les plans d'eau confondus (« tous plans d'eau »). ....	<b>78</b>
<b>Tableau 2 - 3 :</b> Propriétés optiques de la matière organique dissoute : l'absorbance UV spécifique à 254 nm ( $SUVA_{254}$ ) et l'indice de fluorescence (FI) des eaux (mesuré par excitation à 370 nm et calculé par le rapport des émissions obtenues à 450 et 500 nm). ....	<b>80</b>
<b>Tableau 2 - 4 :</b> Concentrations ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) en acides organiques des eaux prélevées en Suède et en Sibérie. « n.a. » indique que l'espèce n'est pas présente ou pas détectée, et « 0 » indique une concentration inférieure à la limite basse de détection (comprise entre 0 et 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ ). ....	<b>82</b>
<b>Tableau 2 - 5 :</b> Concentrations ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) en élément trace (ET) des eaux prélevées. (*) indique une donnée incohérente. ....	<b>83</b>
<b>Tableau 2 - 6 :</b> Median ( $\pm$ IQR) concentration in the Trisino Lake and the Chernoe Pond during the period of low and high emission $\text{CO}_2$ . The minimum is calculated at the end of the day (late afternoon) and the maximum corresponds to the end of night/early morning. ....	<b>100</b>
<b>Tableau 4 - 1 :</b> General physical and chemical dissolved ( $<0.22\ \mu\text{m}$ ) parameters of different aquatic substrates before the first freezing (replicate mean $\pm$ standard deviation).....	<b>150</b>
<b>Tableau 5 - 1 :</b> $R_{\text{DOC}}$ : apparent release rate of DOC ( $\text{mg L}^{-1}\text{ d}^{-1}$ ) for solid frozen peat (SFP) and apparent removal rate of DOC for frozen peat leachate (FPL) incubations, with and without added heterotrophic bacteria (control) at 4, 25 and 45 $^{\circ}\text{C}$ .....	<b>179</b>

**Tableau 5 - 2 :** *Ecoplate (AWCD, H and E), Anions and Organic acids analysis contents in solid frozen peat (SFP) incubations (control and with added heterotrophic bacteria) at the beginning and at the end of the experiments (day 0 and 29) and evolution rate of anions and organic acids concentration between day 0 and day 29.....* **183**

**Tableau 5 - 3 :** *Tableau présentant les p\_values des tests de student réalisés sur les flux de CO<sub>2</sub> entre les différents mélanges. « x » indique une p\_value > 0,05 (non significative)..* **211**

**Tableau 5 - 4 :** *Production de GES du profil (ensemble des niveaux incubés) en nmol CO<sub>2</sub>-eq.g<sup>-1</sup><sub>sol.jour<sup>-1</sup></sub> - aux 4 périodes clés de l'incubation (début, pré-confinement, post-confinement et fin) .....* **212**

# *Bibliographie*

- Abbott, B.W., Jones, J.B., Schuur, E.A.G., III, F.S.C., Bowden, W.B., Bret-Harte, M.S., Epstein, H.E., Flannigan, M.D., Harms, T.K., Hollingsworth, T.N., Mack, M.C., McGuire, A.D., Natali, S.M., Rocha, A.V., Tank, S.E., Turetsky, M.R., Vonk, J.E., Wickland, K.P., Aiken, G.R., Alexander, H.D., Amon, R.M.W., Benscoter, B.W., Bergeron, Y., Bishop, K., Blarquez, O., Bond-Lamberty, B., Breen, A.L., Buffam, I., Cai, Y., Carcaillet, C., Carey, S.K., Chen, J.M., Chen, H.Y.H., Christensen, T.R., Cooper, L.W., Cornelissen, J.H.C., Groot, W.J. de, DeLuca, T.H., Dorrepaal, E., Fetcher, N., Finlay, J.C., Forbes, B.C., French, N.H.F., Gauthier, S., Girardin, M.P., Goetz, S.J., Goldammer, J.G., Gough, L., Grogan, P., Guo, L., Higuera, P.E., Hinzman, L., Hu, F.S., Hugelius, G., Jafarov, E.E., Jandt, R., Johnstone, J.F., Karlsson, J., Kasischke, E.S., Kattner, G., Kelly, R., Keuper, F., Kling, G.W., Kortelainen, P., Kouki, J., Kuhry, P., Laudon, H., Laurion, I., Macdonald, R.W., Mann, P.J., Martikainen, P.J., McClelland, J.W., Molau, U., Oberbauer, S.F., Olefeldt, D., Paré, D., Parisien, M.-A., Payette, S., Peng, C., Pokrovsky, O.S., Rastetter, E.B., Raymond, P.A., Reynolds, M.K., Rein, G., Reynolds, J.F., Robards, M., Rogers, B.M., Schädel, C., Schaefer, K., Schmidt, I.K., Shvidenko, A., Sky, J., Spencer, R.G.M., Starr, G., Striegl, R.G., Teisserenc, R., Tranvik, L.J., Virtanen, T., Welker, J.M., Zimov, S., 2016. Biomass offsets little or none of permafrost carbon release from soils, streams, and wildfire: an expert assessment. *Environ. Res. Lett.* 11, 034014. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/3/034014>
- Abbott, B.W., Larouche, J.R., Jones, J.B., Bowden, W.B., Balsler, A.W., 2014. Elevated dissolved organic carbon biodegradability from thawing and collapsing permafrost: Permafrost carbon biodegradability. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 119, 2049–2063. <https://doi.org/10.1002/2014JG002678>
- Abbt-Braun, G., Frimmel, F.H., 1999. Basic characterization of Norwegian NOM samples — Similarities and differences. *Environ. Int.*, Nom-typing 25, 161–180. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(98\)00118-4](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(98)00118-4)
- Abram, N., Gattuso, J.-P., Prakash, A., Cheng, L., Chidichimo, M.P., Crate, S., Enomoto, H., Garschagen, M., Gruber, N., Harper, S., Holland, E., Kudela, R.M., Rice, J., Steffen, K., von Schuckmann, K., 2019. Framing and context of the report, in: special report on the ocean and cryosphere in a changing climate [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, N.M. Weyer (Eds.)].
- Aerts, R., Verhoeven, J.T.A., Whigham, D.F., 1999. Plant-mediated controls on nutrient cycling in temperate fens and bogs. *Ecology* 80, 2170–2181. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[2170:PMCONC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[2170:PMCONC]2.0.CO;2)

- AFP, L.F. avec, 2020. Russie : les incendies se poursuivent en Sibérie avec des températures record. Le Figaro.fr. URL <https://www.lefigaro.fr/flash-actu/russie-les-incendies-se-poursuivent-en-siberie-avec-des-temperatures-record-20200711>.
- Ågren, A., Buffam, I., Berggren, M., Bishop, K., Jansson, M., Laudon, H., 2008. Dissolved organic carbon characteristics in boreal streams in a forest-wetland gradient during the transition between winter and summer. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 113. <https://doi.org/10.1029/2007JG000674>
- Åkerman, H.J., Johansson, M., 2008. Thawing permafrost and thicker active layers in sub-arctic Sweden. *Permafr. Periglac. Process.* 19, 279–292. <https://doi.org/10.1002/ppp.626>
- Ala-aho, P., Soulsby, C., Pokrovsky, O.S., Kirpotin, S.N., Karlsson, J., Serikova, S., Manasyrov, R., Lim, A., Krickov, I., Kolesnichenko, L.G., Laudon, H., Tetzlaff, D., 2018. Permafrost and lakes control river isotope composition across a boreal Arctic transect in the Western Siberian lowlands. *Environ. Res. Lett.* 13, 034028. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aaa4fe>
- Albéric, P., Voillier, E., Jézéquel, D., Grosbois, C., Michard, G., 2000. Interactions between trace elements and dissolved organic matter in the stagnant anoxic deep layer of a meromictic lake. *Limnol. Oceanogr.* 45, 1088–1096. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.5.1088>
- Arrhenius, S., 1889. *Z. Phys. Chem.* 4. pp. 226–248.
- Ask, J., Karlsson, J., Jansson, M., 2012. Net ecosystem production in clear-water and brown-water lakes. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26. <https://doi.org/10.1029/2010GB003951>
- Ask, J., Karlsson, J., Persson, L., Ask, P., Byström, P., Jansson, M., 2009. Whole-lake estimates of carbon flux through algae and bacteria in benthic and pelagic habitats of clear-water lakes. *Ecology* 90, 1923–1932.
- Attermeyer, K., Catalán, N., Einarsdottir, K., Freixa, A., Groeneveld, M., Hawkes, J.A., Bergquist, J., Tranvik, L.J., 2018. Organic carbon processing during transport through boreal inland waters: particles as important sites. *J. Geophys. Res. Biogeosciences*. <https://doi.org/10.1029/2018JG004500>
- Audry, S., Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Kirpotin, S.N., Dupré, B., 2011. Organic matter mineralization and trace element post-depositional redistribution in Western Siberia thermokarst lake sediments. *Biogeosciences* 8, 3341–3358. <https://doi.org/10.5194/bg-8-3341-2011>
- Ausec, L., Kraigher, B., Mandic-Mulec, I., 2009. Differences in the activity and bacterial community structure of drained grassland and forest peat soils. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1874–1881. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.06.010>
- Baalousha, M., V. D. Kammer, F., Motelica-Heino, M., Baborowski, M., Hofmeister, C., Le Coustumer, P., 2006. Size-based speciation of natural colloidal particles by flow field flow fractionation, inductively coupled plasma-mass spectroscopy, and transmission electron microscopy/x-ray energy dispersive spectroscopy: colloids–trace element interaction. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2156–2162. <https://doi.org/10.1021/es051498d>

- Baehr, M.M., DeGrandpre, M.D., 2004. In situ pCO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> measurements in a lake during turnover and stratification: Observations and modeling. *Limnol. Oceanogr.* 49, 330–340. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.2.0330>
- Barry, R.C., Schnoor, J.L., Sulzberger, B., Sigg, L., Stumm, W., 1994. Iron oxidation kinetics in an acidic alpine lake. *Water Res.* 28, 323–333. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90270-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90270-4)
- Bartsch, I., Moore, T.R., 1985. A preliminary investigation of primary production and decomposition in four peatlands near Schefferville, Québec. *Can. J. Bot.* 63, 1241–1248. <https://doi.org/10.1139/b85-171>
- Basiliko, N., Henry, K., Gupta, V., Moore, T., Driscoll, B., Dunfield, P., 2013. Controls on bacterial and archaeal community structure and greenhouse gas production in natural, mined, and restored Canadian peatlands. *Front. Microbiol.* 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00215>
- Bastviken, D., Sundgren, I., Natchimuthu, S., Reyier, H., Gålfalk, M., 2015. Technical Note: Cost-efficient approaches to measure carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) fluxes and concentrations in terrestrial and aquatic environments using mini loggers. *Biogeosciences* 12, 3849–3859.
- Berg, B., Staaf, H., 1980. Decomposition rate and chemical changes of scots pine needle litter. ii. influence of chemical composition. *Ecol. Bull.* 373–390.
- Berggren, M., Laudon, H., Haei, M., Ström, L., Jansson, M., 2010. Efficient aquatic bacterial metabolism of dissolved low-molecular-weight compounds from terrestrial sources. *ISME J.* 4, 408–416. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.120>
- Bertilsson, S., Tranvik, L.J., 2000. Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnol. Oceanogr.* 45, 753–762. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.4.0753>
- Biasi, C., Rusalimova, O., Meyer, H., Kaiser, C., Wanek, W., Barsukov, P., Junger, H., Richter, A., 2005. Temperature-dependent shift from labile to recalcitrant carbon sources of arctic heterotrophs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 1401–1408. <https://doi.org/10.1002/rcm.1911>
- Blanchette, R.A., Nilsson, T., Daniel, G., Abad, A.R., 1990. Biological degradation of wood. *Biol. Degrad. Wood* 141–174.
- Bochove, E. van, Prévost, D., Pelletier, F., 2000. Effects of freeze–thaw and soil structure on nitrous oxide produced in a clay soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 1638–1643. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.6451638x>
- Boddy, E., Roberts, P., Hill, P.W., Farrar, J., Jones, D.L., 2008. Turnover of low molecular weight dissolved organic C (DOC) and microbial C exhibit different temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1557–1566. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.030>
- Bogard, M.J., Johnston, S.E., Dornblaser, Mark.M., Spencer, R.G.M., Striegl, R.G., Butman, D.E., 2019. Extreme rates and diel variability of planktonic respiration in a shallow sub-arctic lake. *Aquat. Sci.* 81, 60. <https://doi.org/10.1007/s00027-019-0657-9>
- Bott, T.L., Montgomery, D.S., Newbold, J.D., Arscott, D.B., Dow, C.L., Aufdenkampe, A.K., Jackson, J.K., Kaplan, L.A., 2006. Ecosystem metabolism in streams of the Catskill

- Mountains (Delaware and Hudson River watersheds) and Lower Hudson Valley. *J. North Am. Benthol. Soc.* 25, 1018–1044. [https://doi.org/10.1899/0887-3593\(2006\)025\[1018:EMISOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)025[1018:EMISOT]2.0.CO;2)
- Bouchard, F., Francus, P., Pienitz, R., Laurion, I., Feyte, S., 2014. Subarctic thermokarst ponds: investigating recent landscape evolution and sediment dynamics in thawed permafrost of Northern Québec (Canada). *Arct. Antarct. Alp. Res.* 46, 251–271. <https://doi.org/10.1657/1938-4246-46.1.251>
- Bowen, J.C., Kaplan, L.A., Cory, R.M., 2020. Photodegradation disproportionately impacts biodegradation of semi-labile DOM in streams. *Limnol. Oceanogr.* 65, 13–26. <https://doi.org/10.1002/lno.11244>
- Bracho, R., Natali, S., Pegoraro, E., Crummer, K.G., Schädel, C., Celis, G., Hale, L., Wu, L., Yin, H., Tiedje, J.M., Konstantinidis, K.T., Luo, Y., Zhou, J., Schuur, E.A.G., 2016. Temperature sensitivity of organic matter decomposition of permafrost-region soils during laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem.* 97, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.02.008>
- Brick, C.M., Moore, J.N., 1996. Diel variation of trace metals in the upper Clark Fork River, Montana. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1953–1960. <https://doi.org/10.1021/es9506465>
- Brown, J., Ferrians Jr, O., Heginbottom, J., Melnikov, E., 1997. Circum-Arctic map of permafrost and ground-ice conditions. US Geological Survey Reston, VA.
- Bundeleva, I.A., Shirokova, L.S., Bénézeth, P., Pokrovsky, O.S., Kompantseva, E.I., Balor, S., 2012. Calcium carbonate precipitation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Chem. Geol.* 291, 116–131. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.10.003>
- Bundeleva, I.A., Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., Bénézeth, P., Ménez, B., Gérard, E., Balor, S., 2014. Experimental modeling of calcium carbonate precipitation by cyanobacterium *Gloeocapsa* sp. *Chem. Geol.* 374–375, 44–60. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.03.007>
- Bussmann, I., Fedorova, I., Juhls, B., Overduin, P.P., Winkel, M., 2020. Seasonal methane dynamics in three different Siberian water bodies. *Biogeosciences Discuss.* 1–28. <https://doi.org/10.5194/bg-2020-106>
- Cappenberg, T.E., Hordijk, K.A., Jonkheer, G.J., Lauwen, J.P.M., 1982. Carbon flow across the sediment-water interface in Lake Vechten, The Netherlands. *Hydrobiologia* 91, 161–168. <https://doi.org/10.1007/BF02391932>
- Carling, G.T., Fernandez, D.P., Rudd, A., Pazmino, E., Johnson, W.P., 2011. Trace element diel variations and particulate pulses in perimeter freshwater wetlands of Great Salt Lake, Utah. *Chem. Geol., Diel Biogeochemical Processes in Terrestrial Waters* 283, 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.01.001>
- Catalán, N., Marcé, R., Kothawala, D.N., Tranvik, L.J., 2016. Organic carbon decomposition rates controlled by water retention time across inland waters. *Nat. Geosci.* 9, 501–504. <https://doi.org/10.1038/ngeo2720>
- Chapin, F.S., Matson, P.A., Vitousek, P., 2011. Principles of terrestrial ecosystem ecology. springer science & business media.

- Chapin, F.S., Woodwell, G.M., Randerson, J.T., Rastetter, E.B., Lovett, G.M., Baldocchi, D.D., Clark, D.A., Harmon, M.E., Schimel, D.S., Valentini, R., Wirth, C., Aber, J.D., Cole, J.J., Goulden, M.L., Harden, J.W., Heimann, M., Howarth, R.W., Matson, P.A., McGuire, A.D., Melillo, J.M., Mooney, H.A., Neff, J.C., Houghton, R.A., Pace, M.L., Ryan, M.G., Running, S.W., Sala, O.E., Schlesinger, W.H., Schulze, E.-D., 2006. reconciling carbon-cycle concepts, terminology, and methods. *Ecosystems* 9, 1041–1050. <https://doi.org/10.1007/s10021-005-0105-7>
- Chapman, S.J., Thurlow, M., 1998. Peat respiration at low temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1013–1021. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00009-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00009-1)
- Chen, J., Xue, S., Lin, Y., Wang, C., Wang, Q., Han, Q., 2016. Effect of freezing–thawing on dissolved organic matter in water. *Desalination Water Treat.* 57, 17230–17240. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1085913>
- Chin, Y.-Ping., Aiken, George., O’Loughlin, Edward., 1994. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1853–1858. <https://doi.org/10.1021/es00060a015>
- Chupakov, A.V., Pokrovsky, O.S., Moreva, O.Y., Shirokova, L.S., Neverova, N.V., Chupakova, A.A., Kotova, E.I., Vorobyeva, T.Y., 2020. High resolution multi-annual riverine fluxes of organic carbon, nutrient and trace element from the largest European Arctic river, Severnaya Dvina. *Chem. Geol.* 538, 119491. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2020.119491>
- Ciais, P., Tan, J., Wang, X., Roedenbeck, C., Chevallier, F., Piao, S.-L., Moriarty, R., Broquet, G., Quéré, C.L., Canadell, J.G., Peng, S., Poulter, B., Liu, Z., Tans, P., 2019. Five decades of northern land carbon uptake revealed by the interhemispheric CO<sub>2</sub> gradient. *Nature* 568, 221. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1078-6>
- Clapeyron, E., 1834. Mémoire sur la puissance motrice de la chaleur. *J. L’École Polytech. Publ. Par Cons. Instr. Cet Établ. cahier 23*, 153–189.
- Climate & Weather Averages in Naryan-Mar, Russia, 2015. URL <https://www.timeanddate.com/weather/russia/naryan-mar/climate>.
- Clymo, R.S., Fogg, G.E., 1984. The limits to peat bog growth. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 303, 605–654. <https://doi.org/10.1098/rstb.1984.0002>
- Clymo, R.S., Turunen, J., Tolonen, K., 1998. Carbon accumulation in peatland. *Oikos* 81, 368–388. <https://doi.org/10.2307/3547057>
- Cohen, J., Screen, J.A., Furtado, J.C., Barlow, M., Whittleston, D., Coumou, D., Francis, J., Dethloff, K., Entekhabi, D., Overland, J., Jones, J., 2014. Recent Arctic amplification and extreme mid-latitude weather. *Nat. Geosci.* 7, 627–637. <https://doi.org/10.1038/ngeo2234>
- Cole, J.J., Prairie, Y.T., Caraco, N.F., McDowell, W.H., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., Duarte, C.M., Kortelainen, P., Downing, J.A., Middelburg, J.J., Melack, J., 2007. Plumbing the global carbon cycle: integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *ecosystems* 10, 172–185. <https://doi.org/10.1007/s10021-006-9013-8>
- Conant, R.T., Drijber, R.A., Haddix, M.L., Parton, W.J., Paul, E.A., Plante, A.F., Six, J., Steinweg, J.M., 2008a. Sensitivity of organic matter decomposition to warming varies with its

- quality. *Glob. Change Biol.* 14, 868–877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01541.x>
- Conant, R.T., Steinweg, J.M., Haddix, M.L., Paul, E.A., Plante, A.F., Six, J., 2008b. Experimental warming shows that decomposition temperature sensitivity increases with soil organic matter recalcitrance. *Ecology* 89, 2384–2391. <https://doi.org/10.1890/08-0137.1>
- Corbett, J.E., Tfaily, M.M., Burdige, D.J., Glaser, P.H., Chanton, J.P., 2015. The relative importance of methanogenesis in the decomposition of organic matter in northern peatlands. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 120, 280–293. <https://doi.org/10.1002/2014JG002797>
- Cory, R.M., Kling, G.W., 2018. Interactions between sunlight and microorganisms influence dissolved organic matter degradation along the aquatic continuum. *Limnol. Oceanogr. Lett.* 3, 102–116. <https://doi.org/10.1002/lol2.10060>
- Cory, R.M., Miller, M.P., McKnight, D.M., Guerard, J.J., Miller, P.L., 2010. Effect of instrument-specific response on the analysis of fulvic acid fluorescence spectra. *Limnol. Oceanogr. Methods* 8, 67–78. <https://doi.org/10.4319/lom.2010.8.67>
- Cory, R.M., Ward, C.P., Crump, B.C., Kling, G.W., 2014. Sunlight controls water column processing of carbon in arctic fresh waters. *Science* 345, 925–928. <https://doi.org/10.1126/science.1253119>
- Crawford, J.T., Stanley, E.H., Dornblaser, M.M., Striegl, R.G., 2017. CO<sub>2</sub> time series patterns in contrasting headwater streams of North America. *Aquat. Sci.* 79, 473–486. <https://doi.org/10.1007/s00027-016-0511-2>
- Creed, I.F., McKnight, D.M., Pellerin, B.A., Green, M.B., Bergamaschi, B.A., Aiken, G.R., Burns, D.A., Findlay, S.E.G., Shanley, J.B., Striegl, R.G., Aulenbach, B.T., Clow, D.W., Laudon, H., McGlynn, B.L., McGuire, K.J., Smith, R.A., Stackpoole, S.M., 2015. The river as a chemostat: fresh perspectives on dissolved organic matter flowing down the river continuum. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 72, 1272–1285. <https://doi.org/10.1139/cifas-2014-0400>
- Daniel, G., 1994. Use of electron microscopy for aiding our understanding of wood biodegradation. *FEMS Microbiol. Rev.* 13, 199–233. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00043.x>
- Daniel, G.F., Nilsson, T., Singh, A.P., 1987. Degradation of lignocellulosics by unique tunnel-forming bacteria. *Can. J. Microbiol.* 33, 943–948. <https://doi.org/10.1139/m87-166>
- Dart, P.J., Roughley, R.J., Chandler, M.R., 1969. Peat culture of rhizobium trifolii: an examination by electron microscopy. *J. Appl. Bacteriol.* 32, 352–357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1969.tb00983.x>
- Davidson, E.A., Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–173. <https://doi.org/10.1038/nature04514>
- Dawson, J.J.C., Billett, M.F., Hope, D., 2001. Diurnal variations in the carbon chemistry of two acidic peatland streams in north-east Scotland. *Freshw. Biol.* 46, 1309–1322. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00751.x>



- Dedysh, S.N., 2011. Cultivating uncultured bacteria from northern wetlands: knowledge gained and remaining gaps. *Front. Microbiol.* 2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00184>
- Dedysh, S.N., Pankratov, T.A., Belova, S.E., Kulichevskaya, I.S., Liesack, W., 2006. Phylogenetic analysis and in situ identification of bacteria community composition in an acidic sphagnum peat bog. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 2110–2117. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.2110-2117.2006>
- Del Grosso, S.J., Parton, W.J., Mosier, A.R., Holland, E.A., Pendall, E., Schimel, D.S., Ojima, D.S., 2005. Modeling soil CO<sub>2</sub> emissions from ecosystems. *Biogeochemistry* 73, 71–91. <https://doi.org/10.1007/s10533-004-0898-z>
- DeLuca, T.H., Keeney, D.R., McCarty, G.W., 1992. Effect of freeze-thaw events on mineralization of soil nitrogen. *Biol. Fertil. Soils* 14, 116–120. <https://doi.org/10.1007/BF00336260>
- DelVecchia, A.G., Balik, J.A., Campbell, S.K., Taylor, B.W., West, D.C., Wissinger, S.A., 2019. Carbon dioxide concentrations and efflux from permanent, semi-permanent, and temporary subalpine ponds. *Wetlands* 39, 955–969. <https://doi.org/10.1007/s13157-019-01140-3>
- Demars, B.O.L., 2019. Hydrological pulses and burning of dissolved organic carbon by stream respiration. *Limnol. Oceanogr.* 64, 406–421. <https://doi.org/10.1002/lno.11048>
- Demarty, M., Prairie, Y.T., 2009. In situ dissolved organic carbon (DOC) release by submerged macrophyte–epiphyte communities in southern Quebec lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 66, 1522–1531. <https://doi.org/10.1139/F09-099>
- Deshpande, B.N., Maps, F., Matveev, A., Vincent, W.F., 2017. Oxygen depletion in subarctic peatland thaw lakes. *Arct. Sci.* 3, 406–428. <https://doi.org/10.1139/as-2016-0048>
- Devito, K.J., Dillon, P.J., Lazerte, B.D., 1989. Phosphorus and nitrogen retention in five Precambrian shield wetlands. *Biogeochemistry* 8, 185–204. <https://doi.org/10.1007/BF00002888>
- Dillon, P.J., Molot, L.A., 1997. Effect of landscape form on export of dissolved organic carbon, iron, and phosphorus from forested stream catchments. *Water Resour. Res.* 33, 2591–2600. <https://doi.org/10.1029/97WR01921>
- Dioumaeva, I., Trumbore, S., Schuur, E.A.G., Goulden, M.L., Litvak, M., Hirsch, A.I., 2002. Decomposition of peat from upland boreal forest: Temperature dependence and sources of respired carbon. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 107, 8222. <https://doi.org/10.1029/2001JD000848>
- Doane, T.A., 2017. A survey of photogeochemistry. *Geochem. Trans.* 18, 1. <https://doi.org/10.1186/s12932-017-0039-y>
- Dobrovol'skaya, T.G., Golovchenko, A.V., Zvyagintsev, D.G., 2014. Analysis of ecological factors limiting the destruction of high-moor peat. *Eurasian Soil Sci.* 47, 182–193. <https://doi.org/10.1134/S106422931403003X>
- Dokulil, M., 2014. Impact of climate warming on European inland waters. *Inland Waters* 4, 27–40. <https://doi.org/10.5268/IW-4.1.705>

- Drake, T.W., Wickland, K.P., Spencer, R.G.M., McKnight, D.M., Striegl, R.G., 2015. Ancient low-molecular-weight organic acids in permafrost fuel rapid carbon dioxide production upon thaw. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 13946–13951. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511705112>
- Du Rietz, G.E., 1954. Die Mineralbodenwasserzeigergrenze als Grundlage einer natürlichen Zweigliederung der nord-und mitteleuropäischen Moore. *Vegetatio* 5, 571–585.
- Edzwald, J.K., Becker, W.C., Wattier, K.L., 1985. Surrogate parameters for monitoring organic matter and THM precursors. *Journal-American Water Works Assoc.* 77, 122–132.
- Eiler, A., Olsson, J.A., Bertilsson, S., 2006. Diurnal variations in the auto- and heterotrophic activity of cyanobacterial phycospheres (*Gloeotrichia echinulata*) and the identity of attached bacteria. *Freshw. Biol.* 51, 298–311. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2005.01493.x>
- Eilrich, B., Steinmann, P., 2003. Acetate in deep peat bog environments Seasonal variations and implications for methanogenesis: Investigation of an ombrotrophic peat bog in the Jura Mountains, Switzerland. *Z. Dtsch. Geol. Ges.* 145–157.
- Elder, C.D., Schweiger, M., Lam, B., Crook, E.D., Xu, X., Walker, J., Anthony, K.M.W., Czimczik, C.I., 2019. Seasonal sources of whole-lake CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> emissions from interior Alaskan thermokarst lakes. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 124, 1209–1229. <https://doi.org/10.1029/2018JG004735>
- Elder, C.D., Xu, X., Walker, J., Schnell, J.L., Hinkel, K.M., Townsend-Small, A., Arp, C.D., Pohlman, J.W., Gaglioti, B.V., Czimczik, C.I., 2018. Greenhouse gas emissions from diverse Arctic Alaskan lakes are dominated by young carbon. *Nat. Clim. Change* 8, 166–171. <https://doi.org/10.1038/s41558-017-0066-9>
- Eliasson, P.E., McMurtrie, R.E., Pepper, D.A., Strömgren, M., Linder, S., Ågren, G.I., 2005. The response of heterotrophic CO<sub>2</sub> flux to soil warming. *Glob. Change Biol.* 11, 167–181. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00878.x>
- Elliott, A.C., Henry, H.A.L., 2009. Freeze–thaw cycle amplitude and freezing rate effects on extractable nitrogen in a temperate old field soil. *Biol. Fertil. Soils* 45, 469–476. <https://doi.org/10.1007/s00374-009-0356-0>
- Emmenegger, L., Schönenberger, R., Sigg, L., Sulzberger, B., 2001. Light-induced redox cycling of iron in circumneutral lakes. *Limnol. Oceanogr.* 46, 49–61. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0049>
- Eriksson, K.-E.L., Blanchette, R.A., Ander, P., 2012. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. Springer Science & Business Media.
- Ernakovich, J.G., Wallenstein, M.D., 2015. Permafrost microbial community traits and functional diversity indicate low activity at in situ thaw temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 87, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.04.009>
- Essington, M.E., 2015. Soil and water chemistry: an integrative approach, Second edition. ed. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton London New York.
- Eugster, W., Kling, G., Jonas, T., McFadden, J.P., Wüest, A., MacIntyre, S., Chapin, F.S., 2003. CO<sub>2</sub> exchange between air and water in an Arctic Alaskan and midlatitude Swiss lake:

- Importance of convective mixing. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 108. <https://doi.org/10.1029/2002JD002653>
- Evans, C.D., Futter, M.N., Moldan, F., Valinia, S., Frogbrook, Z., Kothawala, D.N., 2017. Variability in organic carbon reactivity across lake residence time and trophic gradients. *Nat. Geosci.* 10, 832–835. <https://doi.org/10.1038/ngeo3051>
- Ewing, S.A., O'Donnell, J.A., Aiken, G.R., Butler, K., Butman, D., Windham-Myers, L., Kanevskiy, M.Z., 2015. Long-term anoxia and release of ancient, labile carbon upon thaw of Pleistocene permafrost: aged acetate in Pleistocene permafrost. *Geophys. Res. Lett.* 42, 10,730–10,738. <https://doi.org/10.1002/2015GL066296>
- Falkner, K.K., Church, M., Measures, C.I., Lebaron, G., Thouron, D., Jeandel, C., Stordal, M.C., Gill, G.A., Mortlock, R., Froelich, P., Chan, L.-H., 1997. Minor and trace element chemistry of Lake Baikal, its tributaries, and surrounding hot springs. *Limnol. Oceanogr.* 42, 329–345. <https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.2.0329>
- Feller, G., Gerday, C., 2003. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nat. Rev. Microbiol.* 1, 200–208. <https://doi.org/10.1038/nrmicro773>
- Fellman, J.B., D'Amore, D.V., Hood, E., 2008. An evaluation of freezing as a preservation technique for analyzing dissolved organic C, N and P in surface water samples. *Sci. Total Environ.* 392, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.11.027>
- Feng, J., Wang, C., Lei, J., Yang, Y., Yan, Q., Zhou, X., Tao, X., Ning, D., Yuan, M.M., Qin, Y., Shi, Z.J., Guo, X., He, Z., Van Nostrand, J.D., Wu, L., Bracho-Garillo, R.G., Penton, C.R., Cole, J.R., Konstantinidis, K.T., Luo, Y., Schuur, E.A.G., Tiedje, J.M., Zhou, J., 2020. Warming-induced permafrost thaw exacerbates tundra soil carbon decomposition mediated by microbial community. *Microbiome* 8, 3. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0778-3>
- Forget, M.-H., Carignan, R., Hudon, C., 2009. Influence of diel cycles of respiration, chlorophyll, and photosynthetic parameters on the summer metabolic balance of temperate lakes and rivers. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 66, 1048–1058. <https://doi.org/10.1139/F09-058>
- Francko, D.A., 1986. Epilimnetic Phosphorus cycling: influence of humic materials and iron on coexisting major mechanisms. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43, 302–310. <https://doi.org/10.1139/f86-039>
- Freeman, C., Evans, C., Monteith, D., Reynolds, B., Fenner, N., 2001. Export of organic carbon from peat soils. *Nature* 412, 785–785.
- Frenzel, P., Karofeld, E., 2000. CH<sub>4</sub> emission from a hollow-ridge complex in a raised bog: The role of CH<sub>4</sub> production and oxidation. *Biogeochemistry* 51, 91–112. <https://doi.org/10.1023/A:1006351118347>
- Frey, K.E., Sobczak, W.V., Mann, P.J., Holmes, R.M., 2016. Optical properties and bioavailability of dissolved organic matter along a flow-path continuum from soil pore waters to the Kolyma River mainstem, East Siberia. *Biogeosciences* 13, 2279–2290. <https://doi.org/10.5194/bg-13-2279-2016>
- Friedlingstein, P., Cox, P., Betts, R., Bopp, L., von Bloh, W., Brovkin, V., Cadule, P., Doney, S., Eby, M., Fung, I., Bala, G., John, J., Jones, C., Joos, F., Kato, T., Kawamiya, M., Knorr, W., Lindsay, K., Matthews, H.D., Raddatz, T., Rayner, P., Reick, C., Roeckner, E., Schnitzler, K.-G., Schnur, R., Strassmann, K., Weaver, A.J., Yoshikawa, C., Zeng, N., 2006. Climate–

- carbon cycle feedback analysis: results from the C4MIP model intercomparison. *J. Clim.* 19, 3337–3353. <https://doi.org/10.1175/JCLI3800.1>
- Gałka, M., Szal, M., Watson, E.J., Gallego-Sala, A., Amesbury, M.J., Charman, D.J., Roland, T.P., Turner, T.E., Swindles, G.T., 2017. Vegetation succession, carbon accumulation and hydrological change in subarctic peatlands, Abisko, Northern Sweden. *Permafr. Periglac. Process.* 28, 589–604. <https://doi.org/10.1002/ppp.1945>
- Gammons, C.H., Nimick, D.A., Parker, S.R., Cleasby, T.E., McCleskey, R.B., 2005. Diel behavior of iron and other heavy metals in a mountain stream with acidic to neutral pH: Fisher Creek, Montana, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, 2505–2516. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2004.11.020>
- Gao, L., Zhou, Z., Reyes, A.V., Guo, L., 2018. Yields and characterization of dissolved organic matter from different aged soils in Northern Alaska. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 123, 2035–2052. <https://doi.org/10.1029/2018JG004408>
- Gao, T., Kang, S., Chen, R., Zhang, Taigang, Zhang, Tingjun, Han, C., Tripathee, L., Sillanpää, M., Zhang, Y., 2019. Riverine dissolved organic carbon and its optical properties in a permafrost region of the Upper Heihe River basin in the Northern Tibetan Plateau. *Sci. Total Environ.* 686, 370–381. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.478>
- Garcia-Mina, J.M., 2006. Stability, solubility and maximum metal binding capacity in metal–humic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost. *Org. Geochem., Advances in Organic Geochemistry 2005* 37, 1960–1972. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.07.027>
- Garland, J.L., 1996. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biol. Biochem.* 28, 213–221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00112-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00112-3)
- Gauci, V., Dise, N., Fowler, D., 2002. Controls on suppression of methane flux from a peat bog subjected to simulated acid rain sulfate deposition. *Glob. Biogeochem. Cycles* 16, 4-1-4–12. <https://doi.org/10.1029/2000GB001370>
- Giesy, J.P., Briese, L.A., 1978. Particulate formation due to freezing humic waters. *Water Resour. Res.* 14, 542–544. <https://doi.org/10.1029/WR014i003p00542>
- Gignac, L.D., Vitt, D.H., 1994. Responses of northern peatlands to climate change: effects on bryophytes. *J. Hattori Bot. Lab.* 75, 119–132.
- Golovatskaya, E., Nikonova, L., 2013. Decomposition of plant residues in peat soils of oligotrophic peatlands. *Vestn. Tomsk. Gos. Univ. Biol. Tomsk State Univ. J. Biol.* 3, 137–151.
- Gorham, E., 1991. Northern peatlands: role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecol. Appl.* 1, 182–195. <https://doi.org/10.2307/1941811>
- Gorham, E., Janssens, J.A., 1992. Concepts of fen and bog re-examined in relation to bryophyte cover and the acidity of surface waters. *Acta Soc. Bot. Pol.* 61, 7–20. <https://doi.org/10.5586/asbp.1992.001>
- Goudet, J.-L., 2017. En Sibérie, 7.000 bulles de méthane prêtes à exploser. *Futura*. URL <https://www.futura-sciences.com/planete/actualites/rechauffement-siberie-7000-bulles-methane-prettes-exploser-66800/> .

- Greenberg, A., Trussel, R., Clesceri, L., Franson, M., 1985. APHA, AWWA and WPCF, Standard methods for the examination of water and wastewaters.
- Grosse, G., Romanovsky, V., Jorgenson, T., Anthony, K.W., Brown, J., Overduin, P.P., 2011. Vulnerability and feedbacks of permafrost to climate change. *Eos Trans. Am. Geophys. Union* 92, 73–74. <https://doi.org/10.1029/2011EO090001>
- Gryta, A., Frąc, M., Oszust, K., 2014. The application of the biolog ecoplate approach in ecotoxicological evaluation of dairy sewage sludge. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 174, 1434–1443. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1131-8>
- Guasch, H., Armengol, J., Martí, E., Sabater, S., 1998. Diurnal variation in dissolved oxygen and carbon dioxide in two low-order streams. *Water Res.* 32, 1067–1074. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00330-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00330-8)
- Guénet, H., Davranche, M., Vantelon, D., Pédrot, M., Al-Sid-Cheikh, M., Dia, A., Jestin, J., 2016. Evidence of organic matter control on As oxidation by iron oxides in riparian wetlands. *Chem. Geol.* 439, 161–172. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.06.023>
- Hamilto-Taylor, J., Willis, M., 1990. A quantitative assessment of the sources and general dynamics of trace metals in a soft-water lake. *Limnol. Oceanogr.* 35, 840–851. <https://doi.org/10.4319/lo.1990.35.4.0840>
- Hansen, A.M., Kraus, T.E.C., Pellerin, B.A., Fleck, J.A., Downing, B.D., Bergamaschi, B.A., 2016. Optical properties of dissolved organic matter (DOM): Effects of biological and photolytic degradation. *Limnol. Oceanogr.* 61, 1015–1032. <https://doi.org/10.1002/lno.10270>
- Hanson, P.C., Carpenter, S.R., Armstrong, D.E., Stanley, E.H., Kratz, T.K., 2006. Lake dissolved inorganic carbon and dissolved oxygen: changing drivers from days to decades. *Ecol. Monogr.* 76, 343–363. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(2006\)076\[0343:LDICAD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(2006)076[0343:LDICAD]2.0.CO;2)
- Hartley, I.P., Heinemeyer, A., Ineson, P., 2007. Effects of three years of soil warming and shading on the rate of soil respiration: substrate availability and not thermal acclimation mediates observed response. *Glob. Change Biol.* 13, 1761–1770. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01373.x>
- Hartley, I.P., Ineson, P., 2008. Substrate quality and the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1567–1574. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.007>
- Hartshorn, G.S., 1988. Tropical and subtropical vegetation of Meso-America. *North Am. Terr. Veg. Camb. Univ. Press Camb. UK* 365–390.
- Hayat, M.A. (Eric), 2012. Basic techniques for transmission electron microscopy. Elsevier.
- Henry, H.A.L., 2008. Climate change and soil freezing dynamics: historical trends and projected changes. *Clim. Change* 87, 421–434. <https://doi.org/10.1007/s10584-007-9322-8>
- Hentschel, K., Borken, W., Matzner, E., 2008. Repeated freeze–thaw events affect leaching losses of nitrogen and dissolved organic matter in a forest soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 171, 699–706. <https://doi.org/10.1002/jpln.200700154>
- Heslop, J.K., Winkel, M., Anthony, K.M.W., Spencer, R.G.M., Podgorski, D.C., Zito, P., Kholodov, A., Zhang, M., Liebner, S., 2019. Increasing organic carbon biolability with depth in

- yedoma permafrost: ramifications for future climate change. *J. Geophys. Res. Biogeosciences*. <https://doi.org/10.1029/2018JG004712>
- Hicks Pries, C.E., Schuur, E.A.G., Crummer, K.G., 2012. Holocene carbon stocks and carbon accumulation rates altered in soils undergoing permafrost thaw. *Ecosystems* 15, 162–173. <https://doi.org/10.1007/s10021-011-9500-4>
- Hinkel, K.M., Eisner, W.R., Bockheim, J.G., Nelson, F.E., Peterson, K.M., Dai, X., 2003. Spatial extent, age, and carbon stocks in drained thaw lake basins on the Barrow Peninsula, Alaska. *Arct. Antarct. Alp. Res.* 35, 291–300. [https://doi.org/10.1657/1523-0430\(2003\)035\[0291:SEAACS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1657/1523-0430(2003)035[0291:SEAACS]2.0.CO;2)
- Holdridge, L.R., 1947. Determination of world plant formations from simple climatic data. *Science* 105, 367–368. <https://doi.org/10.1126/science.105.2727.367>
- Holmes, R.M., McClelland, J.W., Peterson, B.J., Tank, S.E., Bulygina, E., Eglinton, T.I., Gordeev, V.V., Gurtovaya, T.Y., Raymond, P.A., Repeta, D.J., Staples, R., Striegl, R.G., Zhulidov, A.V., Zimov, S.A., 2012. Seasonal and annual fluxes of nutrients and organic matter from large rivers to the arctic ocean and surrounding seas. *Estuaries Coasts* 35, 369–382. <https://doi.org/10.1007/s12237-011-9386-6>
- Holmes, R.M., McClelland, J.W., Raymond, P.A., Frazer, B.B., Peterson, B.J., Stieglitz, M., 2008. Lability of DOC transported by Alaskan rivers to the Arctic Ocean. *Geophys. Res. Lett.* 35. <https://doi.org/10.1029/2007GL032837>
- Hood, E., Williams, M.W., McKnight, D.M., 2005. Sources of dissolved organic matter (DOM) in a Rocky Mountain stream using chemical fractionation and stable isotopes. *Biogeochemistry* 74, 231–255. <https://doi.org/10.1007/s10533-004-4322-5>
- Hornibrook, E.R.C., Longstaffe, F.J., Fyfe, W.S., 2000. Evolution of stable carbon isotope compositions for methane and carbon dioxide in freshwater wetlands and other anaerobic environments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 64, 1013–1027. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(99\)00321-X](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(99)00321-X)
- Hugelius, G., Strauss, J. (orcid:0000000346784982), Zubrzycki, S. (orcid:0000000263989173), Harden, J.W., Schuur, E. a. G., Ping, C.-L., Schirrmeister, L., Grosse, G., Michaelson, G.J., Koven, C.D., O'Donnell, J.A., Elberling, B., Mishra, U., Camill, P., Yu, Z., Palmtag, J., Kuhry, P., 2014. Estimated stocks of circumpolar permafrost carbon with quantified uncertainty ranges and identified data gaps. *Biogeosciences Online* 11. <https://doi.org/10.5194/bg-11-6573-2014>
- Huissteden, J. van, 2020. Thawing permafrost: permafrost carbon in a warming Arctic. Springer, Cham.
- Hulatt, C.J., Kaartokallio, H., Asmala, E., Autio, R., Stedmon, C.A., Sonninen, E., Oinonen, M., Thomas, D.N., 2014. Bioavailability and radiocarbon age of fluvial dissolved organic matter (DOM) from a northern peatland-dominated catchment: effect of land-use change. *Aquat. Sci.* 76, 393–404. <https://doi.org/10.1007/s00027-014-0342-y>
- Hutchins, R.H.S., Aukes, P., Schiff, S.L., Dittmar, T., Prairie, Y.T., Giorgio, P.A. del, 2017. The optical, chemical, and molecular dissolved organic matter succession along a boreal soil-stream-river continuum. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 122, 2892–2908. <https://doi.org/10.1002/2017JG004094>

- Illina, S.M., Lapitskiy, S.A., Alekhin, Y.V., Viers, J., Benedetti, M., Pokrovsky, O.S., 2016. Speciation, size fractionation and transport of trace elements in the continuum soil water–mire–humic lake–river–large oligotrophic lake of a subarctic watershed. *Aquat. Geochem.* 22, 65–95. <https://doi.org/10.1007/s10498-015-9277-8>
- Ingram, H. a. P., 1978. Soil layers in mires: function and terminology. *J. Soil Sci.* 29, 224–227. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1978.tb02053.x>
- Ingri, J., Widerlund, A., Land, M., Gustafsson, Ö., Andersson, P., Öhlander, B., 2000. Temporal variations in the fractionation of the rare earth elements in a boreal river; the role of colloidal particles. *Chem. Geol.* 166, 23–45.
- IPCC, 2018. Global warming of 1.5°C - An IPCC special report on the impact of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty.
- IPCC, 2013. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Ivanov, K.E., 1981. Water movement in mirelands. *Water Mov. Mirelands*.
- Ivarson, K.C., Sowden, F.J., 1970. Effect of frost action and storage of soil at freezing temperatures on the free amino acids, free sugars and respiratory activity of soil. *Can. J. Soil Sci.* 50, 191–198. <https://doi.org/10.4141/cjss70-027>
- Jansson, M., Bergström, A.-K., Blomqvist, P., Drakare, S., 2000. Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology* 81, 3250–3255.
- Jansson, M., Persson, L., De Roos, A.M., Jones, R.I., Tranvik, L.J., 2007. Terrestrial carbon and intraspecific size-variation shape lake ecosystems. *Trends Ecol. Evol.* 22, 316–322.
- Jiang, L., Song, Y., Sun, L., Song, C., Wang, X., Ma, X., Liu, C., Gao, J., 2020. Effects of warming on carbon emission and microbial abundances across different soil depths of a peatland in the permafrost region under anaerobic condition. *Appl. Soil Ecol.* 156, 103712. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103712>
- Johnston, S.E., Bogard, M.J., Rogers, J.A., Butman, D., Striegl, R.G., Dornblaser, M., Spencer, R.G.M., 2019. Constraining dissolved organic matter sources and temporal variability in a model sub-Arctic lake. *Biogeochemistry* 146, 271–292. <https://doi.org/10.1007/s10533-019-00619-9>
- Jones, C.A., Nimick, D.A., McCleskey, R.B., 2004. Relative effect of temperature and pH on diel cycling of dissolved trace elements in Prickly Pear Creek, Montana. *Water, Air, Soil Pollut.* 153, 95–113. <https://doi.org/10.1023/B:WATE.0000019934.64939.f0>
- Jones, R.I., Salonen, K., Haan, H.D., 1988. Phosphorus transformations in the epilimnion of humic lakes: abiotic interactions between dissolved humic materials and phosphate. *Freshw. Biol.* 19, 357–369. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1988.tb00357.x>

- Jonsson, A., Åberg, J., Lindroth, A., Jansson, M., 2008. Gas transfer rate and CO<sub>2</sub> flux between an unproductive lake and the atmosphere in northern Sweden. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 113. <https://doi.org/10.1029/2008JG000688>
- Joosten, H., Clarke, D., 2002. Wise use of mires and peatlands. *Int. Mire Conserv. Group Int. Peat Soc.* 304.
- Kaiser, K., Canedo-Oropeza, M., McMahon, R., Amon, R.M.W., 2017. Origins and transformations of dissolved organic matter in large Arctic rivers. *Sci. Rep.* 7, 13064. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12729-1>
- Kassambara, A., 2017. Practical guide to principal component methods in R: PCA, M (CA), FAMD, MFA, HCPC, factoextra. STHDA.
- Kaverin, D.A., Pastukhov, A.V., Novakovskiy, A.B., 2017. Active layer thickness dynamics in the tundra permafrost-affected soils: a calm site study, the European North of Russia. *Earths Cryosphere*. [https://doi.org/10.21782/EC1560-7496-2017-6\(30-38\)](https://doi.org/10.21782/EC1560-7496-2017-6(30-38))
- Kawasaki, N., Komatsu, K., Kohzu, A., Tomioka, N., Shinohara, R., Satou, T., Watanabe, F.N., Tada, Y., Hamasaki, K., Kushairi, M.R.M., Imai, A., 2013. Bacterial Contribution to Dissolved Organic Matter in Eutrophic Lake Kasumigaura, Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 7160–7168. <https://doi.org/10.1128/AEM.01504-13>
- Kettridge, N., Binley, A., 2011. Characterization of peat structure using X-ray computed tomography and its control on the ebullition of biogenic gas bubbles. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 116. <https://doi.org/10.1029/2010JG001478>
- Kim, E.-A., Lee, H.K., Choi, J.H., 2017. Effects of a controlled freeze-thaw event on dissolved and colloidal soil organic matter. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 1338–1346. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7552-x>
- Kim, S.-Y., Freeman, C., Fenner, N., Kang, H., 2012. Functional and structural responses of bacterial and methanogen communities to 3-year warming incubation in different depths of peat mire. *Appl. Soil Ecol.* 57, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.015>
- Kirpotin, Sergey N., Berezin, A., Bazanov, V., Polishchuk, Y., Vorobiov, S., Mironycheva-Tokoreva, N., Kosykh, N., Volkova, I., Dupre, B., Pokrovsky, O., Kouraev, A., Zakharova, E., Shirokova, L., Mognard, N., Biancamaria, S., Viers, J., Kolmakova, M., 2009. Western Siberia wetlands as indicator and regulator of climate change on the global scale. *Int. J. Environ. Stud.* 66, 409–421. <https://doi.org/10.1080/00207230902753056>
- Kirpotin, S. N., Polishchuk, Y., Bryksina, N., 2009. Abrupt changes of thermokarst lakes in Western Siberia: impacts of climatic warming on permafrost melting. *Int. J. Environ. Stud.* 66, 423–431. <https://doi.org/10.1080/00207230902758287>
- Kirschbaum, M.U.F., 1995. The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic C storage. *Soil Biol. Biochem.* 27, 753–760. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)00242-S](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)00242-S)
- Klaminder, J., Yoo, K., Rydberg, J., Giesler, R., 2008. An explorative study of mercury export from a thawing palsamire. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 113. <https://doi.org/10.1029/2008JG000776>



- Klinova, E.A., Faibusovich, Ya.E., Abakumova, L.A., 2012. State geological map of the Russian Federation at a scale of 1: 1,000,000. West Siberian Series. Map of the Pliocene-Quaternary formations, R-43 (Surgut). Cartographic factory VSEGEI.
- Knoblauch, C., Beer, C., Sosnin, A., Wagner, D., Pfeiffer, E.-M., 2013. Predicting long-term carbon mineralization and trace gas production from thawing permafrost of Northeast Siberia. *Glob. Change Biol.* 19, 1160–1172. <https://doi.org/10.1111/gcb.12116>
- Knoblauch, C., Spott, O., Evgrafova, S., Kutzbach, L., Pfeiffer, E.-M., 2015. Regulation of methane production, oxidation, and emission by vascular plants and bryophytes in ponds of the northeast Siberian polygonal tundra. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 120, 2525–2541. <https://doi.org/10.1002/2015JG003053>
- Koenigk, T., Brodeau, L., Graverson, R.G., Karlsson, J., Svensson, G., Tjernström, M., Willén, U., Wyser, K., 2013. Arctic climate change in 21st century CMIP5 simulations with EC-Earth. *Clim. Dyn.* 40, 2719–2743. <https://doi.org/10.1007/s00382-012-1505-y>
- Kohler, J., Brandt, O., Johansson, M., Callaghan, T., 2006. A long-term Arctic snow depth record from Abisko, northern Sweden, 1913–2004. *Polar Res.* 25, 91–113. <https://doi.org/10.3402/polar.v25i2.6240>
- Kokelj, S.V., Jorgenson, M.T., 2013. Advances in thermokarst research. *Permafr. Periglac. Process.* 24, 108–119. <https://doi.org/10.1002/ppp.1779>
- Kokelj, S.V., Lantz, T.C., Tunnicliffe, J., Segal, R., Lacelle, D., 2017a. Climate-driven thaw of permafrost preserved glacial landscapes, northwestern Canada. *Geology* 45, 371–374. <https://doi.org/10.1130/G38626.1>
- Kokelj, S.V., Palmer, M.J., Lantz, T.C., Burn, C.R., 2017b. Ground temperatures and permafrost warming from forest to tundra, Tuktoyaktuk Coastlands and Anderson Plain, NWT, Canada. *Permafr. Periglac. Process.* 28, 543–551. <https://doi.org/10.1002/ppp.1934>
- Koven, C.D., Riley, W.J., Stern, A., 2013. Analysis of permafrost thermal dynamics and response to climate change in the CMIP5 earth system models. *J. Clim.* 26, 1877–1900. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00228.1>
- Krachler, R., Kammer, F. von der, Jirsa, F., Süphandag, A., Krachler, R.F., Plessl, C., Vogt, M., Keppler, B.K., Hofmann, T., 2012. Nanoscale lignin particles as sources of dissolved iron to the ocean. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26. <https://doi.org/10.1029/2012GB004294>
- Kraigher, B., Stres, B., Hacin, J., Ausec, L., Mahne, I., van Elsas, J.D., Mandic-Mulec, I., 2006. Microbial activity and community structure in two drained fen soils in the Ljubljana Marsh. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2762–2771. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.031>
- Kremer, C., Pettolino, F., Bacic, A., Drinnan, A., 2004. Distribution of cell wall components in Sphagnum hyaline cells and in liverwort and hornwort elaters. *Planta* 219, 1023–1035. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1308-4>
- Krickov, I.V., Pokrovsky, O.S., Manasypov, R.M., Lim, A.G., Shirokova, L.S., Viers, J., 2019. Colloidal transport of carbon and metals by western Siberian rivers during different seasons across a permafrost gradient. *Geochim. Cosmochim. Acta* 265, 221–241. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2019.08.041>

- Kritzberg, E.S., Cole, J.J., Pace, M.L., Granéli, W., Bade, D.L., 2004. Autochthonous versus allochthonous carbon sources of bacteria: results from whole-lake <sup>13</sup>C addition experiments. *Limnol. Oceanogr.* 49, 588–596. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.2.0588>
- Kritzberg, E.S., Cole, J.J., Pace, M.M., Granéli, W., 2006. Bacterial growth on allochthonous carbon in humic and nutrient-enriched lakes: results from whole-lake <sup>13</sup>C addition experiments. *Ecosystems* 9, 489–499. <https://doi.org/10.1007/s10021-005-0115-5>
- Kuhn, M., Lundin, E.J., Giesler, R., Johansson, M., Karlsson, J., 2018. Emissions from thaw ponds largely offset the carbon sink of northern permafrost wetlands. *Sci. Rep.* 8, 9535. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27770-x>
- Kuhry, P., Turunen, J., 2006. The postglacial development of boreal and subarctic peatlands, in: Wieder, R.K., Vitt, D.H. (Eds.), *Boreal Peatland Ecosystems*, Ecological Studies. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 25–46. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9_3)
- Laine, J., Vasander, H., 1996. Ecology and vegetation gradients of peatlands. *Peatl. Finl.* 10, 20.
- Larsen, K.S., Jonasson, S., Michelsen, A., 2002. Repeated freeze–thaw cycles and their effects on biological processes in two arctic ecosystem types. *Appl. Soil Ecol.* 21, 187–195. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00093-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00093-8)
- Laurion, I., Massicotte, P., Mazoyer, F., Negandhi, K., Mladenov, N., 2020. Weak mineralization despite strong processing of dissolved organic matter in Eastern Arctic tundra ponds. *Limnol. Oceanogr.* n/a. <https://doi.org/10.1002/lno.11634>
- Laurion, I., Mladenov, N., 2013. Dissolved organic matter photolysis in Canadian arctic thaw ponds. *Environ. Res. Lett.* 8, 035026. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/3/035026>
- Laurion, I., Vincent, W.F., MacIntyre, S., Retamal, L., Dupont, C., Francus, P., Pienitz, R., 2010. Variability in greenhouse gas emissions from permafrost thaw ponds. *Limnol. Oceanogr.* 55, 115–133. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.1.0115>
- Li, Y., Song, G., Massicotte, P., Yang, F., Li, R., Xie, H., 2019. Distribution, seasonality, and fluxes of dissolved organic matter in the Pearl River (Zhujiang) estuary, China. *Biogeosciences* 16, 2751–2770. <https://doi.org/10.5194/bg-16-2751-2019>
- Lim, A.G., Loiko, S.V., Kuzmina, D.M., Krickov, I.V., Shirokova, L.S., Kulizhsky, S.P., Vorobyev, S.N., Pokrovsky, O.S., 2021. Dispersed ground ice of permafrost peatlands: Potential unaccounted carbon, nutrient and metal sources. *Chemosphere* 266, 128953. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128953>
- Lindström, M., Bax, G., Dinger, M., Dworatzek, M., Erdtmann, W., Fricke, A., Kathol, B., 1985. Geology of a part of the Torneträsk section of the Caledonian front, northern Sweden.
- Lipson, D.A., Jha, M., Raab, T.K., Oechel, W.C., 2010. Reduction of iron (III) and humic substances plays a major role in anaerobic respiration in an Arctic peat soil. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 115. <https://doi.org/10.1029/2009JG001147>
- Lipson, D.A., Monson, R.K., 1998. Plant-microbe competition for soil amino acids in the alpine tundra: effects of freeze-thaw and dry-rewet events. *Oecologia* 113, 406–414. <https://doi.org/10.1007/s004420050393>

- Liu, F., Kou, D., Abbott, B.W., Mao, C., Chen, Y., Chen, L., Yang, Y., 2019. Disentangling the effects of climate, vegetation, soil and related substrate properties on the biodegradability of permafrost-derived dissolved organic carbon. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 124, 3377–3389. <https://doi.org/10.1029/2018JG004944>
- Liu, H., Zhang, Q., Katul, G.G., Cole, J.J., Chapin, F.S., MacIntyre, S., 2016. Large CO<sub>2</sub> effluxes at night and during synoptic weather events significantly contribute to CO<sub>2</sub> emissions from a reservoir. *Environ. Res. Lett.* 11, 064001. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/6/064001>
- Lloyd, J., Taylor, J.A., 1994. On the temperature dependence of soil respiration. *Funct. Ecol.* 8, 315–323. <https://doi.org/10.2307/2389824>
- Loiko, S., Raudina, T., Lim, A., Kuzmina, D., Kulizhskiy, S., Pokrovsky, O., 2019. Microtopography controls of carbon and related elements distribution in the West Siberian Frozen Bogs. *Geosciences* 9, 291. <https://doi.org/10.3390/geosciences9070291>
- Loiko, S.V., Pokrovsky, O.S., Raudina, T.V., Lim, A., Kolesnichenko, L.G., Shirokova, L.S., Vorobyev, S.N., Kirpotin, S.N., 2017. Abrupt permafrost collapse enhances organic carbon, CO<sub>2</sub>, nutrient and metal release into surface waters. *Chem. Geol.* 471, 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2017.10.002>
- Lundin, E.J., Klaminder, J., Giesler, R., Persson, A., Olefeldt, D., Heliasz, M., Christensen, T.R., Karlsson, J., 2016. Is the subarctic landscape still a carbon sink? Evidence from a detailed catchment balance. *Geophys. Res. Lett.* 43, 1988–1995. <https://doi.org/10.1002/2015GL066970>
- Lynch, J.K., Beatty, C.M., Seidel, M.P., Jungst, L.J., DeGrandpre, M.D., 2010. Controls of riverine CO<sub>2</sub> over an annual cycle determined using direct, high temporal resolution pCO<sub>2</sub> measurements. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 115. <https://doi.org/10.1029/2009JG001132>
- Ma, Q., Jin, H., Yu, C., Bense, V.F., 2019. Dissolved organic carbon in permafrost regions: A review. *Sci. China Earth Sci.* 62, 349–364. <https://doi.org/10.1007/s11430-018-9309-6>
- MacCarthy, P., 2001. The principles of humic substances. *Soil Sci.* 166, 738–751.
- MacIntyre, S., Cortés, A., Sadro, S., 2018. Sediment respiration drives circulation and production of CO<sub>2</sub> in ice-covered Alaskan arctic lakes. *Limnol. Oceanogr. Lett.* 3, 302–310. <https://doi.org/10.1002/lol2.10083>
- Mackelprang, R., Waldrop, M.P., DeAngelis, K.M., David, M.M., Chavarria, K.L., Blazewicz, S.J., Rubin, E.M., Jansson, J.K., 2011. Metagenomic analysis of a permafrost microbial community reveals a rapid response to thaw. *Nature* 480, 368–371. <https://doi.org/10.1038/nature10576>
- Malcolm, R.L., 1990. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Anal. Chim. Acta* 232, 19–30.
- Malmer, N., Johansson, T., Olsrud, M., Christensen, T.R., 2005. Vegetation, climatic changes and net carbon sequestration in a North-Scandinavian subarctic mire over 30 years. *Glob. Change Biol.* 11, 1895–1909. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.01042.x>

- Manasyrov, R.M., Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., 2017. Experimental modeling of thaw lake water evolution in discontinuous permafrost zone: Role of peat, lichen leaching and ground fire. *Sci. Total Environ.* 580, 245–257. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.067>
- Manasyrov, R.M., Vorobyev, S.N., Loiko, S.V., Kritzkov, I.V., Shirokova, L.S., Shevchenko, V.P., Kirpotin, S.N., Kulizhsky, S.P., Kolesnichenko, L.G., Zemtzov, V.A., Sinkinov, V.V., Pokrovsky, O.S., 2015. Seasonal dynamics of organic carbon and metals in thermokarst lakes from the discontinuous permafrost zone of western Siberia. *Biogeosciences* 12, 3009–3028. <https://doi.org/10.5194/bg-12-3009-2015>
- Mann, P.J., Davydova, A., Zimov, N., Spencer, R.G.M., Davydov, S., Bulygina, E., Zimov, S., Holmes, R.M., 2012. Controls on the composition and lability of dissolved organic matter in Siberia's Kolyma River basin. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 117. <https://doi.org/10.1029/2011JG001798>
- Mann, P.J., Eglinton, T.I., McIntyre, C.P., Zimov, N., Davydova, A., Vonk, J.E., Holmes, R.M., Spencer, R.G.M., 2015. Utilization of ancient permafrost carbon in headwaters of Arctic fluvial networks. *Nat. Commun.* 6, 7856. <https://doi.org/10.1038/ncomms8856>
- Marchal, O., 2018. *Statistiques appliquées avec introduction au logiciel R*.
- Marie, D., Partensky, F., Vaultot, D., Brussaard, C., 1999. Enumeration of phytoplankton, bacteria, and viruses in marine samples. *Curr. Protoc. Cytom.* 10, 11.11.1-11.11.15. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy1111s10>
- Marín-Spiotta, E., Gruley, K.E., Crawford, J., Atkinson, E.E., Miesel, J.R., Greene, S., Cardona-Correa, C., Spencer, R.G.M., 2014. Paradigm shifts in soil organic matter research affect interpretations of aquatic carbon cycling: transcending disciplinary and ecosystem boundaries. *Biogeochemistry* 117, 279–297. <https://doi.org/10.1007/s10533-013-9949-7>
- Marushchak, M.E., Kiepe, I., Biasi, C., Elsakov, V., Friborg, T., Johansson, T., Soegaard, H., Virtanen, T., Martikainen, P.J., 2013. Carbon dioxide balance of subarctic tundra from plot to regional scales. *Biogeosciences* 10, 437–452. <https://doi.org/10.5194/bg-10-437-2013>
- Mast, M.A., Wickland, K.P., Striegl, R.T., Clow, D.W., 1998. Winter fluxes of CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> from subalpine soils in Rocky Mountain National Park, Colorado. *Glob. Biogeochem. Cycles* 12, 607–620. <https://doi.org/10.1029/98GB02313>
- Matveev, A., 2019. Variable effects of climate change on carbon balance in northern ecosystems. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 226, 012023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/226/1/012023>
- Matveev, A., Laurion, I., Deshpande, B.N., Bhiry, N., Vincent, W.F., 2016. High methane emissions from thermokarst lakes in subarctic peatlands. *Limnol. Oceanogr.* 61, S150–S164. <https://doi.org/10.1002/lno.10311>
- McGuire, A.D., Anderson, L.G., Christensen, T.R., Dallimore, S., Guo, L., Hayes, D.J., Heimann, M., Lorenson, T.D., Macdonald, R.W., Roulet, N., 2009. Sensitivity of the carbon cycle in the Arctic to climate change. *Ecol. Monogr.* 79, 523–555. <https://doi.org/10.1890/08-2025.1>

- McGuire, A.D., Lawrence, D.M., Koven, C., Clein, J.S., Burke, E., Chen, G., Jafarov, E., MacDougall, A.H., Marchenko, S., Nicolsky, D., Peng, S., Rinke, A., Ciais, P., Gouttevin, I., Hayes, D.J., Ji, D., Krinner, G., Moore, J.C., Romanovsky, V., Schädel, C., Schaefer, K., Schuur, E.A.G., Zhuang, Q., 2018. Dependence of the evolution of carbon dynamics in the northern permafrost region on the trajectory of climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, 3882–3887. <https://doi.org/10.1073/pnas.1719903115>
- McGuire, A.D., Wirth, C., Apps, M., Beringer, J., Clein, J., Epstein, H., Kicklighter, D.W., Bhatti, J., Chapin, F.S., Groot, B. de, Efremov, D., Eugster, W., Fukuda, M., Gower, T., Hinzman, L., Huntley, B., Jia, G.J., Kasischke, E., Melillo, J., Romanovsky, V., Shvidenko, A., Vaganov, E., Walker, D., 2002. Environmental variation, vegetation distribution, carbon dynamics and water/energy exchange at high latitudes. *J. Veg. Sci.* 13, 301–314. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2002.tb02055.x>
- McKenzie, C., Schiff, S., Aravena, R., Kelly, C., Louis, V.S., 1998. Effect of temperature on production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> from peat in a natural and flooded boreal forest wetland. *Clim. Change* 40, 247–266. <https://doi.org/10.1023/A:1005416903368>
- McKnight, D.M., Boyer, E.W., Westerhoff, P.K., Doran, P.T., Kulbe, T., Andersen, D.T., 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* 46, 38–48. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0038>
- McMahon, J.W., 1969. The annual and diurnal variation in the vertical distribution of acid-soluble ferrous and total iron in a small dimictic lake. *Limnol. Oceanogr.* 14, 357–367. <https://doi.org/10.4319/lo.1969.14.3.0357>
- Melillo, J.M., Steudler, P.A., Aber, J.D., Newkirk, K., Lux, H., Bowles, F.P., Catricala, C., Magill, A., Ahrens, T., Morrissette, S., 2002. Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. *Science* 298, 2173–2176. <https://doi.org/10.1126/science.1074153>
- Meredith, M., Sommerkorn, M., Cassotta, S., Derksen, C., Ekaykin, A., Hollowed, A., Kofinas, G., Mackintosh, A., Melbourne-Thomas, J., Muelbert, M.M.C., Ottersen, G., Pritchard, H., Schuur, E.A.G., 2019. Polar regions, in: special report on the ocean and cryosphere in a changing climate [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, N.M. Weyer (Eds.)]
- Michaelson, G.J., Ping, C.L., Kling, G.W., Hobbie, J.E., 1998. The character and bioactivity of dissolved organic matter at thaw and in the spring runoff waters of the arctic tundra North Slope, Alaska. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 103, 28939–28946. <https://doi.org/10.1029/98JD02650>
- Moore, T.R., 2009. Dissolved organic carbon production and transport in Canadian peatlands. *Carbon Cycl. North. Peatl. AGU Geophys. Monogr.* 184, 229–236.
- Moore, T.R., Bubier, J.L., Froelking, S.E., Lafleur, P.M., Roulet, N.T., 2002. Plant biomass and production and CO<sub>2</sub> exchange in an ombrotrophic bog. *J. Ecol.* 90, 25–36.
- Moran, M.A., Hodson, R.E., 1990. Bacterial production on humic and nonhumic components of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* 35, 1744–1756. <https://doi.org/10.4319/lo.1990.35.8.1744>

- Morgalev, Y.N., Lushchaeva, I.V., Morgaleva, T.G., Kolesnichenko, L.G., Loiko, S.V., Krickov, I.V., Lim, A., Raudina, T.V., Volkova, I.I., Shirokova, L.S., Morgalev, S.Y., Vorobyev, S.N., Kirpotin, S.N., Pokrovsky, O.S., 2017. Bacteria primarily metabolize at the active layer/permafrost border in the peat core from a permafrost region in western Siberia. *Polar Biol.* 40, 1645–1659. <https://doi.org/10.1007/s00300-017-2088-1>
- Muster, S., Roth, K. (ORCID:0000000326348825), Langer, M., Lange, S., Cresto Aleina, F., Bartsch, A., Morgenstern, A., Grosse, G., Jones, B., Sannel, A.B.K. (ORCID:0000000213506516), Sjöberg, Y. (ORCID:0000000242925808), Gunther, F. (ORCID:0000000182988937), Andresen, C., Veremeeva, A., Lindgren, P.R., Bouchard, F., Lara, M.J., Fortier, D. (ORCID:0000000309086157), Charbonneau, S. (ORCID:0000000172010417), Virtanen, T.A., Hugelius, G., Palmtag, J., Siewert, M.B., Riley, W.J., Koven, C.D. (ORCID:0000000233670065), Boike, J. (ORCID:0000000258752112), 2017. PeRL: a circum-Arctic Permafrost Region Pond and Lake database. *Earth Syst. Sci. Data Online* 9. <https://doi.org/10.5194/essd-9-317-2017>
- Naiman, R.J., 1983. The annual pattern and spatial distribution of aquatic oxygen metabolism in boreal forest watersheds. *Ecol. Monogr.* 53, 73–94. <https://doi.org/10.2307/1942588>
- Nauta, A.L., Heijmans, M.M.P.D., Blok, D., Limpens, J., Elberling, B., Gallagher, A., Li, B., Petrov, R.E., Maximov, T.C., van Huissteden, J., Berendse, F., 2015. Permafrost collapse after shrub removal shifts tundra ecosystem to a methane source. *Nat. Clim. Change* 5, 67–70. <https://doi.org/10.1038/nclimate2446>
- Neal, C., Watts, C., Williams, R.J., Neal, M., Hill, L., Wickham, H., 2002. Diurnal and longer term patterns in carbon dioxide and calcite saturation for the River Kennet, south-eastern England. *Sci. Total Environ., Water quality functioning of lowland permeable catchments: inferences from an intensive study of the River Kennet and upper River Thames* 282–283, 205–231. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00952-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00952-4)
- Nealson, K.H., Saffarini, D., 1994. Iron and manganese in anaerobic respiration: environmental significance, physiology, and regulation. *Annu. Rev. Microbiol.* 48, 311–344.
- Neff, J.C., Finlay, J.C., Zimov, S.A., Davydov, S.P., Carrasco, J.J., Schuur, E. a. G., Davydova, A.I., 2006. Seasonal changes in the age and structure of dissolved organic carbon in Siberian rivers and streams. *Geophys. Res. Lett.* 33. <https://doi.org/10.1029/2006GL028222>
- Negandhi, K., Laurion, I., Whiticar, M.J., Galand, P.E., Xu, X., Lovejoy, C., 2013. Small thaw ponds: an unaccounted source of methane in the Canadian high Arctic. *PLoS ONE* 8, e78204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078204>
- Nimick, D.A., Gammons, C.H., Parker, S.R., 2011. Diel biogeochemical processes and their effect on the aqueous chemistry of streams: A review. *Chem. Geol., Diel Biogeochemical Processes in Terrestrial Waters* 283, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2010.08.017>
- Obernosterer, I., Benner, R., 2004. Competition between biological and photochemical processes in the mineralization of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* 49, 117–124. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.1.0117>

- O'Donnell, J.A., Aiken, G.R., Butler, K.D., Guillemette, F., Podgorski, D.C., Spencer, R.G.M., 2016. DOM composition and transformation in boreal forest soils: The effects of temperature and organic-horizon decomposition state. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 121, 2727–2744. <https://doi.org/10.1002/2016JG003431>
- Olefeldt, D., Roulet, N.T., 2014. Permafrost conditions in peatlands regulate magnitude, timing, and chemical composition of catchment dissolved organic carbon export. *Glob. Change Biol.* 20, 3122–3136. <https://doi.org/10.1111/gcb.12607>
- Olefeldt, D., Roulet, N.T., 2012. Effects of permafrost and hydrology on the composition and transport of dissolved organic carbon in a subarctic peatland complex. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 117. <https://doi.org/10.1029/2011JG001819>
- Oleinikova, O.V., Drozdova, O.Yu., Lapitskiy, S.A., Demin, V.V., Bychkov, A.Yu., Pokrovsky, O.S., 2017a. Dissolved organic matter degradation by sunlight coagulates organo-mineral colloids and produces low-molecular weight fraction of metals in boreal humic waters. *Geochim. Cosmochim. Acta* 211, 97–114. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2017.05.023>
- Oleinikova, O.V., Shirokova, L.S., Drozdova, O.Y., Lapitskiy, S.A., Pokrovsky, O.S., 2018. Low biodegradability of dissolved organic matter and trace metals from subarctic waters. *Sci. Total Environ.* 618, 174–187. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.340>
- Oleinikova, O.V., Shirokova, L.S., Gérard, E., Drozdova, O.Yu., Lapitskiy, S.A., Bychkov, A.Yu., Pokrovsky, O.S., 2017b. Transformation of organo-ferric peat colloids by a heterotrophic bacterium. *Geochim. Cosmochim. Acta* 205, 313–330. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2017.02.029>
- Overland, J.E., Wang, M., 2013. When will the summer Arctic be nearly sea ice free? *Geophys. Res. Lett.* 40, 2097–2101. <https://doi.org/10.1002/grl.50316>
- Packalen, M.S., Finkelstein, S.A., McLaughlin, J.W., 2014. Carbon storage and potential methane production in the Hudson Bay Lowlands since mid-Holocene peat initiation. *Nat. Commun.* 5, 4078. <https://doi.org/10.1038/ncomms5078>
- Palmer, S.M., Evans, C.D., Chapman, P.J., Burden, A., Jones, T.G., Allott, T.E.H., Evans, M.G., Moody, C.S., Worrall, F., Holden, J., 2016. Sporadic hotspots for physico-chemical retention of aquatic organic carbon: from peatland headwater source to sea. *Aquat. Sci.* 78, 491–504. <https://doi.org/10.1007/s00027-015-0448-x>
- Panikov, N.S., Dedysh, S.N., 2000. Cold season CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> emission from boreal peat bogs (West Siberia): Winter fluxes and thaw activation dynamics. *Glob. Biogeochem. Cycles* 14, 1071–1080. <https://doi.org/10.1029/1999GB900097>
- Pankratov, T.A., Ivanova, A.O., Dedysh, S.N., Liesack, W., 2011. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic Sphagnum peat. *Environ. Microbiol.* 13, 1800–1814. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02491.x>
- Panneer Selvam, B., Lapiere, J.-F., Soares, A.R.A., Bastviken, D., Karlsson, J., Berggren, M., 2019. Photo-reactivity of dissolved organic carbon in the freshwater continuum. *Aquat. Sci.* 81, 57. <https://doi.org/10.1007/s00027-019-0653-0>

- Park, S., Joe, K.S., Han, S.H., Kim, H.S., 1999. Characteristics of dissolved organic carbon in the leachate from Moonam Sanitary Landfill. *Environ. Technol.* 20, 419–424. <https://doi.org/10.1080/09593332008616835>
- Parker, S.R., Gammons, C.H., Poulson, S.R., DeGrandpre, M.D., 2007. Diel variations in stream chemistry and isotopic composition of dissolved inorganic carbon, upper Clark Fork River, Montana, USA. *Appl. Geochem.* 22, 1329–1343. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2007.02.007>
- Parker, S.R., Gammons, C.H., Poulson, S.R., DeGrandpre, M.D., Weyer, C.L., Smith, M.G., Babcock, J.N., Oba, Y., 2010. Diel behavior of stable isotopes of dissolved oxygen and dissolved inorganic carbon in rivers over a range of trophic conditions, and in a mesocosm experiment. *Chem. Geol., Rates of Geochemical Processes and their Application to Natural Systems* 269, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.06.016>
- Parmentier, F.J.W., van Huissteden, J., Kip, N., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., Maximov, T.C., Dolman, A.J., 2011. The role of endophytic methane-oxidizing bacteria in submerged Sphagnum in determining methane emissions of Northeastern Siberian tundra. *Biogeosciences* 8, 1267–1278. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1267-2011>
- Pavlova, O.A., Pokrovsky, O.S., Manasypov, R.M., Shirokova, L.S., Vorobyev, S.N., 2016. Seasonal dynamics of phytoplankton in acidic and humic environment in thaw ponds of discontinuous permafrost zone. *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* 52, 47–60. <https://doi.org/10.1051/limn/2016006>
- Payandi-Rolland, D., 2020c. Data from the DOM biodegradation along a hydrological continuum in permafrost peatlands. <https://doi.org/10.17632/K9J72KJ6JS.1>
- Payandi-Rolland, D., Shirokova, L.S., Nakhle, P., Tesfa, M., Abdou, A., Causserand, C., Lartiges, B., Rols, J.-L., Guérin, F., Bénézech, P., Pokrovsky, O.S., 2020a. Aerobic release and biodegradation of dissolved organic matter from frozen peat: Effects of temperature and heterotrophic bacteria. *Chem. Geol.* 536, 119448. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2019.119448>
- Payandi-Rolland, D., Shirokova, L.S., Tesfa, M., Bénézech, P., Lim, A.G., Kuzmina, D., Karlsson, J., Giesler, R., Pokrovsky, O.S., 2020b. Dissolved organic matter biodegradation along a hydrological continuum in permafrost peatlands. *Sci. Total Environ.* 141463. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141463>
- Peacock, M., Evans, C.D., Fenner, N., Freeman, C., Gough, R., Jones, T.G., Lebron, I., 2014. UV-visible absorbance spectroscopy as a proxy for peatland dissolved organic carbon (DOC) quantity and quality: considerations on wavelength and absorbance degradation. *Environ. Sci. Process. Impacts* 16, 1445. <https://doi.org/10.1039/c4em00108g>
- Peregon, A., Maksyutov, S., Yamagata, Y., 2009. An image-based inventory of the spatial structure of West Siberian wetlands. *Environ. Res. Lett.* 4, 045014. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/4/4/045014>



- Peter, H., Singer, G.A., Preiler, C., Chiffard, P., Steniczka, G., Battin, T.J., 2014. Scales and drivers of temporal pCO<sub>2</sub> dynamics in an Alpine stream. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 119, 1078–1091. <https://doi.org/10.1002/2013JG002552>
- Petrescu, A.M.R., Van Huissteden, J.C., Jackowicz-Korczynski, M., Yurova, A., Christensen, T.R., Crill, P.M., Maximov, T.C., 2007. Modelling CH<sub>4</sub> emissions from arctic wetlands: effects of hydrological parameterization. *Biogeosciences Discuss.* 4, 3195–3227.
- Petzold, G., Niranjana, K., Aguilera, J.M., 2013. Vacuum-assisted freeze concentration of sucrose solutions. *J. Food Eng.* 115, 357–361. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.048>
- Peura, S., Wauthy, M., Simone, D., Eiler, A., Einarsdóttir, K., Rautio, M., Bertilsson, S., 2020. Ontogenic succession of thermokarst thaw ponds is linked to dissolved organic matter quality and microbial degradation potential. *Limnol. Oceanogr.* 65, S248–S263. <https://doi.org/10.1002/lno.11349>
- Peuravuori, J., Pihlaja, K., 1997. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Anal. Chim. Acta* 337, 133–149. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(96\)00412-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(96)00412-6)
- Péwé, R., Brown, T., 1973. Distribution of permafrost in North America and its relationship to the environment: a review, 1963–1973. Presented at the Permafrost: North American Contribution to The Second International Conference, National Academies, p. 71.
- Podgrajsek, E., Sahlée, E., Rutgersson, A., 2014. Diurnal cycle of lake methane flux. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 119, 236–248. <https://doi.org/10.1002/2013JG002327>
- Pokrovsky, O., Schott, J., 2002. Iron colloids/organic matter associated transport of major and trace elements in small boreal rivers and their estuaries (NW Russia). *Chem. Geol.* 190, 141–179.
- Pokrovsky, O., Schott, J., Dupré, B., 2006. Trace element fractionation and transport in boreal rivers and soil porewaters of permafrost-dominated basaltic terrain in Central Siberia. *Geochim. Cosmochim. Acta* 70, 3239–3260.
- Pokrovsky, O.S., Karlsson, J., Giesler, R., 2018. Freeze-thaw cycles of Arctic thaw ponds remove colloidal metals and generate low-molecular-weight organic matter. *Biogeochemistry* 137, 321–336. <https://doi.org/10.1007/s10533-018-0421-6>
- Pokrovsky, O.S., Manasypov, R.M., Kopysov, S.G., Krickov, I.V., Shirokova, L.S., Loiko, S.V., Lim, A.G., Kolesnichenko, L.G., Vorobyev, S.N., Kirpotin, S.N., 2020. Impact of permafrost thaw and climate warming on riverine export fluxes of carbon, nutrients and metals in Western Siberia. *Water* 12, 1817. <https://doi.org/10.3390/w12061817>
- Pokrovsky, O.S., Manasypov, R.M., Loiko, S.V., Shirokova, L.S., 2016. Organic and organo-mineral colloids in discontinuous permafrost zone. *Geochim. Cosmochim. Acta* 188, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2016.05.035>
- Pokrovsky, O.S., Shirokova, L., Payandi-rolland, D., Lim, A., Manasypov, R., 2019. Diurnal cycle of C concentration and emission fluxes in small thaw ponds of frozen peatlands 1. <https://doi.org/10.17632/yvdc63s55.1>

- Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., 2013. Diurnal variations of dissolved and colloidal organic carbon and trace metals in a boreal lake during summer bloom. *Water Res.* 47, 922–932. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.017>
- Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Kirpotin, S.N., Audry, S., Viers, J., Dupré, B., 2011. Effect of permafrost thawing on organic carbon and trace element colloidal speciation in the thermokarst lakes of western Siberia. *Biogeosciences* 8, 565–583. <https://doi.org/10.5194/bg-8-565-2011>
- Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Kirpotin, S.N., Kulizhsky, S.P., Vorobiev, S.N., 2013. Impact of western Siberia heat wave 2012 on greenhouse gases and trace metal concentration in thaw lakes of discontinuous permafrost zone. *Biogeosciences* 10, 5349–5365. <https://doi.org/10.5194/bg-10-5349-2013>
- Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Manasypov, R.M., Kirpotin, S.N., Kulizhsky, S.P., Kolesnichenko, L.G., Loiko, S.V., Vorobyev, S.N., 2014. Thermokarst lakes of Western Siberia: a complex biogeochemical multidisciplinary approach. *Int. J. Environ. Stud.* 71, 733–748. <https://doi.org/10.1080/00207233.2014.942535>
- Polishchuk, Y.M., Bogdanov, A.N., Muratov, I.N., Polishchuk, V.Y., Lim, A., Manasypov, R.M., Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., 2018. Minor contribution of small thaw ponds to the pools of carbon and methane in the inland waters of the permafrost-affected part of the Western Siberian Lowland. *Environ. Res. Lett.* 13, 045002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aab046>
- Polishchuk, Y.M., Bogdanov, A.N., Polishchuk, V.Y., Manasypov, R.M., Shirokova, L.S., Kirpotin, S.N., Pokrovsky, O.S., 2017. Size distribution, surface coverage, water, carbon, and metal storage of thermokarst lakes in the permafrost zone of the Western Siberia Lowland. *Water* 9, 228. <https://doi.org/10.3390/w9030228>
- Pollard, P.C., 2013. In situ rapid measures of total respiration rate capture the super labile DOC bacterial substrates of freshwater. *Limnol. Oceanogr. Methods* 11, 584–593. <https://doi.org/10.4319/lom.2013.11.584>
- Porcal, P., Dillon, P.J., Molot, L.A., 2015. Temperature dependence of photodegradation of dissolved organic matter to dissolved inorganic carbon and particulate organic carbon. *PLOS ONE* 10, e0128884. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128884>
- Porter, K.G., Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25, 943–948. <https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0943>
- Poulin, B.A., Ryan, J.N., Aiken, G.R., 2014. Effects of iron on optical properties of dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 48, 10098–10106. <https://doi.org/10.1021/es502670r>
- Préskienis, V., Laurion, I., Bouchard, F., Douglas, P., Billet, M., Fortier, D., Xu, X., 2020. Seasonal patterns in greenhouse gas emissions from lakes and ponds in a High Arctic polygonal landscape. *Limnol Ocean.*
- Price, J.S., Schlotzhauer, S.M., 1999. Importance of shrinkage and compression in determining water storage changes in peat: the case of a mined peatland. *Hydrol. Process.* 13, 2591–2601. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1085\(199911\)13:16<2591::AID-HYP933>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1085(199911)13:16<2591::AID-HYP933>3.0.CO;2-E)

- Price, P.B., Sowers, T., 2004. Temperature dependence of metabolic rates for microbial growth, maintenance, and survival. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 4631–4636. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400522101>
- Pries, C.E.H., Logtestijn, R.S.P. van, Schuur, E.A.G., Natali, S.M., Cornelissen, J.H.C., Aerts, R., Dorrepaal, E., 2015. Decadal warming causes a consistent and persistent shift from heterotrophic to autotrophic respiration in contrasting permafrost ecosystems. *Glob. Change Biol.* 21, 4508–4519. <https://doi.org/10.1111/gcb.13032>
- Prokushkin, A., Hobara, S., Prokushkin, S., 2010. Behavior of dissolved organic carbon in larch ecosystems, in: *Permafrost Ecosystems*. Springer, pp. 205–228.
- Prokushkin, A.S., Pokrovsky, O.S., Shirokova, L.S., Korets, M.A., Viers, J., Prokushkin, S.G., Amon, R.M.W., Guggenberger, G., McDowell, W.H., 2011. Sources and the flux pattern of dissolved carbon in rivers of the Yenisey basin draining the Central Siberian Plateau. *Environ. Res. Lett.* 6, 045212. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/6/4/045212>
- Raftery, A.E., Zimmer, A., Frierson, D.M.W., Startz, R., Liu, P., 2017. Less than 2 °C warming by 2100 unlikely. *Nat. Clim. Change* 7, 637–641. <https://doi.org/10.1038/nclimate3352>
- Raudina, T.V., Loiko, S.V., Lim, A., Manasypov, R.M., Shirokova, L.S., Istigechev, G.I., Kuzmina, D.M., Kulizhsky, S.P., Vorobyev, S.N., Pokrovsky, O.S., 2018. Permafrost thaw and climate warming may decrease the CO<sub>2</sub>, carbon, and metal concentration in peat soil waters of the Western Siberia Lowland. *Sci. Total Environ.* 634, 1004–1023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.059>
- Reader, R., Stewart, J.M., 1972. The relationship between net primary production and accumulation for a peatland in southeastern Manitoba. *Ecology* 53, 1024–1037.
- Reiman, J.H., Xu, Y.J., 2019. Dissolved carbon export and CO<sub>2</sub> outgassing from the lower Mississippi River – Implications of future river carbon fluxes. *J. Hydrol.* 578, 124093. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.124093>
- Ren, J., Vanapalli, S.K., 2020. Effect of freeze–thaw cycling on the soil-freezing characteristic curve of five Canadian soils. *Vadose Zone J.* 19, e20039. <https://doi.org/10.1002/vzj2.20039>
- Reyes, F.R., Loughheed, V.L., 2015. Rapid nutrient release from permafrost thaw in arctic aquatic ecosystems. *Arct. Antarct. Alp. Res.* 47, 35–48. <https://doi.org/10.1657/AAAR0013-099>
- Rezanezhad, F., Price, J.S., Quinton, W.L., Lennartz, B., Milojevic, T., Van Cappellen, P., 2016. Structure of peat soils and implications for water storage, flow and solute transport: A review update for geochemists. *Chem. Geol.* 429, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.03.010>
- Riordan, B., Verbyla, D., McGuire, A.D., 2006. Shrinking ponds in subarctic Alaska based on 1950–2002 remotely sensed images. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 111. <https://doi.org/10.1029/2005JG000150>
- Rivkina, E., Gilichinsky, D., Wagener, S., Tiedje, J., McGrath, J., 1998. Biogeochemical activity of anaerobic microorganisms from buried permafrost sediments. *Geomicrobiol. J.* 15, 187–193. <https://doi.org/10.1080/01490459809378075>

- Rivkina, E., Laurinavichius, K., McGrath, J., Tiedje, J., Shcherbakova, V., Gilichinsky, D., 2004. Microbial life in permafrost. *Adv. Space Res., Space Life Sciences: Search for Signatures of Life, and Space Flight Environmental Effects on the Nervous System* 33, 1215–1221. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2003.06.024>
- Rivkina, E., Shcherbakova, V., Laurinavichius, K., Petrovskaya, L., Krivushin, K., Kraev, G., Pecheritsina, S., Gilichinsky, D., 2007. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in permafrost. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61, 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00315.x>
- Rivkina, E.M., Friedmann, E.I., McKay, C.P., Gilichinsky, D.A., 2000. metabolic activity of permafrost bacteria below the freezing point. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3230–3233. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3230-3233.2000>
- Robroek, B.J.M., Jassey, V.E.J., Payne, R.J., Martí, M., Bragazza, L., Bleeker, A., Buttler, A., Caporn, S.J.M., Dise, N.B., Kattge, J., Zając, K., Svensson, B.H., Ruijven, J. van, Verhoeven, J.T.A., 2017. Taxonomic and functional turnover are decoupled in European peat bogs. *Nat. Commun.* 8, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01350-5>
- Rocher-Ros, G., 2019. Biophysical controls on CO<sub>2</sub> evasion from Arctic inland waters. Umeå Univeristy.
- Rocher-Ros, G., Sponseller, R.A., Bergström, A.-K., Myrstener, M., Giesler, R., 2020. Stream metabolism controls diel patterns and evasion of CO<sub>2</sub> in Arctic streams. *Glob. Change Biol.* 26, 1400–1413. <https://doi.org/10.1111/gcb.14895>
- Roehm, C.L., Giesler, R., Karlsson, J., 2009. Bioavailability of terrestrial organic carbon to lake bacteria: The case of a degrading subarctic permafrost mire complex. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 114. <https://doi.org/10.1029/2008JG000863>
- Romanova, E.A., Bybina, R.T., Golitsyna, E.F., Ivanova, G.M., Usova, L.I., Trushnikova, L.G., 1977. Tipologicheskaya karta bolot Zapadno-Sibirskoi ravniny (Wetland typology map of West Siberian lowland).
- Romanovsky, V.E., Osterkamp, T.E., 2000. Effects of unfrozen water on heat and mass transport processes in the active layer and permafrost. *Permafr. Periglac. Process.* 11, 219–239. [https://doi.org/10.1002/1099-1530\(200007/09\)11:3<219::AID-PPP352>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1099-1530(200007/09)11:3<219::AID-PPP352>3.0.CO;2-7)
- Romanovsky, V.E., Smith, S.L., Christiansen, H.H., 2010. Permafrost thermal state in the polar Northern Hemisphere during the international polar year 2007–2009: a synthesis. *Permafr. Periglac. Process.* 21, 106–116. <https://doi.org/10.1002/ppp.689>
- Sadro, S., Holtgrieve, G.W., Solomon, C.T., Koch, G.R., 2014. Widespread variability in overnight patterns of ecosystem respiration linked to gradients in dissolved organic matter, residence time, and productivity in a global set of lakes. *Limnol. Oceanogr.* 59, 1666–1678. <https://doi.org/10.4319/lo.2014.59.5.1666>
- Sadro, S., Nelson, C.E., Melack, J.M., 2011. Linking diel patterns in community respiration to bacterioplankton in an oligotrophic high-elevation lake. *Limnol. Oceanogr.* 56, 540–550. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.2.0540>

- Sallantaus, T., 1992. Leaching in the material balance of peatlands—preliminary results. *Suo* 43, 253–258.
- Savenko, A.V., Savenko, V.S., Pokrovsky, O.S., 2020. Phase fractionation of chemical elements during the formation of ice in fresh surface waters. *Dokl. Earth Sci.* 492, 327–332. <https://doi.org/10.1134/S1028334X20050207>
- Scanlon, D., Moore, T., 2000. Carbon dioxide production from peatland soil profiles: the influence of temperature, oxic/anoxic conditions and substrate. *Soil Sci.* 165, 153–160.
- Schädel, C., Bader, M.K.-F., Schuur, E.A.G., Biasi, C., Bracho, R., Čapek, P., De Baets, S., Diáková, K., Ernakovich, J., Estop-Aragones, C., Graham, D.E., Hartley, I.P., Iversen, C.M., Kane, E., Knoblauch, C., Lupascu, M., Martikainen, P.J., Natali, S.M., Norby, R.J., O'Donnell, J.A., Chowdhury, T.R., Šantrůčková, H., Shaver, G., Sloan, V.L., Treat, C.C., Turetsky, M.R., Waldrop, M.P., Wickland, K.P., 2016. Potential carbon emissions dominated by carbon dioxide from thawed permafrost soils. *Nat. Clim. Change* 6, 950–953. <https://doi.org/10.1038/nclimate3054>
- Schädel, C., Schuur, E.A.G., Bracho, R., Elberling, B., Knoblauch, C., Lee, H., Luo, Y., Shaver, G.R., Turetsky, M.R., 2014. Circumpolar assessment of permafrost C quality and its vulnerability over time using long-term incubation data. *Glob. Change Biol.* 20, 641–652. <https://doi.org/10.1111/gcb.12417>
- Schimel, J.P., Clein, J.S., 1996. Microbial response to freeze-thaw cycles in tundra and taiga soils. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1061–1066. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(96\)00083-1](https://doi.org/10.1016/0038-0717(96)00083-1)
- Schirrmeister, L., Grosse, G., Wetterich, S., Overduin, P.P., Strauss, J., Schuur, E.A.G., Hubberten, H.-W., 2011. Fossil organic matter characteristics in permafrost deposits of the northeast Siberian Arctic. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 116. <https://doi.org/10.1029/2011JG001647>
- Schlesinger, W., Bernhardt, E., 1997. The biosphere: biogeochemical cycling on land. *Biogeochem. Anal. Glob. Change San Diego Acad. Press* P 166–223.
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Schuur, E., McGuire, A., Romanovsky, V., Schädel, C., Mack, M., 2018. Chapter 11: Arctic and boreal carbon. *Second State Carbon Cycle Rep. SOCCR2 Sustain. Assess. Rep.* 428–468.
- Schuur, E.A.G., Bockheim, J., Canadell, J.G., Euskirchen, E., Field, C.B., Goryachkin, S.V., Hagemann, S., Kuhry, P., Lafleur, P.M., Lee, H., Mazhitova, G., Nelson, F.E., Rinke, A., Romanovsky, V.E., Shiklomanov, N., Tarnocai, C., Venevsky, S., Vogel, J.G., Zimov, S.A., 2008. Vulnerability of permafrost carbon to climate change: implications for the global carbon cycle. *BioScience* 58, 701–714. <https://doi.org/10.1641/B580807>
- Schuur, E.A.G., McGuire, A.D., Schädel, C., Grosse, G., Harden, J.W., Hayes, D.J., Hugelius, G., Koven, C.D., Kuhry, P., Lawrence, D.M., Natali, S.M., Olefeldt, D., Romanovsky, V.E., Schaefer, K., Turetsky, M.R., Treat, C.C., Vonk, J.E., 2015. Climate change and the

- permafrost carbon feedback. *Nature* 520, 171–179.  
<https://doi.org/10.1038/nature14338>
- Selvam, B.P., Lapiere, J.-F., Soares, A.R.A., Bastviken, D., Karlsson, J., Berggren, M., 2019. Photo-reactivity of dissolved organic carbon in the freshwater continuum. *Aquat. Sci.* 81, 57. <https://doi.org/10.1007/s00027-019-0653-0>
- Serikova, S., Pokrovsky, O.S., Ala-Aho, P., Kazantsev, V., Kirpotin, S.N., Kopysov, S.G., Krickov, I.V., Laudon, H., Manasypov, R.M., Shirokova, L.S., Soulsby, C., Tetzlaff, D., Karlsson, J., 2018. High riverine CO<sub>2</sub> emissions at the permafrost boundary of Western Siberia. *Nat. Geosci.* 1. <https://doi.org/10.1038/s41561-018-0218-1>
- Serikova, S., Pokrovsky, O.S., Laudon, H., Krickov, I.V., Lim, A.G., Manasypov, R.M., Karlsson, J., 2019. High carbon emissions from thermokarst lakes of Western Siberia. *Nat. Commun.* 10, 1552. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09592-1>
- Serreze, M.C., Barrett, A.P., Stroeve, J.C., Kindig, D.N., Holland, M.M., 2009. The emergence of surface-based Arctic amplification. *The Cryosphere* 3, 11–19.  
<https://doi.org/10.5194/tc-3-11-2009>
- Shafique, U., Anwar, J., uz-Zaman, W., Rehman, R., Salman, M., Dar, A., Jamil, N., 2012. Forced migration of soluble and suspended materials by freezing front in aqueous systems. *J. Hydro-Environ. Res.* 6, 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.jher.2011.10.001>
- Shiller, A.M., Duan, S., Erp, P. van, Bianchi, T.S., 2006. Photo-oxidation of dissolved organic matter in river water and its effect on trace element speciation. *Limnol. Oceanogr.* 51, 1716–1728. <https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.4.1716>
- Shirokova, L., Ivanova, I., Manasypov, R., Pokrovsky, O., Chupakov, A., Iglovsky, S., Shorina, N., Zabelina, S., Gofarov, M., Payandi-Rolland, D., Chupakova, A., Moreva, O., 2019. The evolution of the ecosystems of thermokarst lakes of the Bolshezemelskaya tundra in the context of climate change. *E3S Web Conf.* 98, 02010.  
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/20199802010>
- Shirokova, L.S., Bénézet, P., Pokrovsky, O.S., Gerard, E., Ménez, B., Alfredsson, H., 2012. Effect of the heterotrophic bacterium *Pseudomonas reactans* on olivine dissolution kinetics and implications for CO<sub>2</sub> storage in basalts. *Geochim. Cosmochim. Acta* 80, 30–50. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.11.046>
- Shirokova, L.S., Bredoire, R., Rols, J.-L., Pokrovsky, O.S., 2017a. Moss and Peat Leachate Degradability by Heterotrophic Bacteria: The Fate of Organic Carbon and Trace Metals. *Geomicrobiol. J.* 34, 641–655. <https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1111470>
- Shirokova, L.S., Chupakov, A.V., Zabelina, S.A., Neverova, N.V., Payandi-Rolland, D., Causserand, C., Karlsson, J., Pokrovsky, O.S., 2019a. Humic surface waters of frozen peat bogs (permafrost zone) are highly resistant to bio- and photodegradation. *Biogeosciences* 16, 2511–2526. <https://doi.org/10.5194/bg-16-2511-2019>
- Shirokova, L.S., Ivanova, I., Manasypov, R., Pokrovsky, O., Chupakov, A., Iglovsky, S., Shorina, N., Zabelina, S., Gofarov, M., Payandi-Rolland, D., Chupakova, A., Moreva, O., 2019b. The evolution of the ecosystems of thermokarst lakes of the Bolshezemelskaya tundra in the context of climate change. *E3S Web Conf.* 98, 02010.  
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/20199802010>

- Shirokova, L.S., Kunhel, L., Rols, J.-L., Pokrovsky, O.S., 2015. Experimental modeling of cyanobacterial bloom in a thermokarst lake: fate of organic carbon, trace metal, and carbon sequestration potential. *Aquat. Geochem.* 21, 487–511. <https://doi.org/10.1007/s10498-015-9269-8>
- Shirokova, L.S., Labouret, J., Gurge, M., Gérard, E., Ivanova, I.S., Zabelina, S.A., Pokrovsky, O.S., 2017b. Impact of cyanobacterial associate and heterotrophic bacteria on dissolved organic carbon and metal in moss and peat leachate: application to permafrost thaw in aquatic environments. *Aquat. Geochem.* 23, 331–358. <https://doi.org/10.1007/s10498-017-9325-7>
- Shirokova, L.S., Payandi-Rolland, D., Lim, A.G., Manasypov, R.M., Allen, J., Rols, J.-L., Benezeth, P., Karlsson, J., Pokrovsky, O.S., 2020. Diel cycles of carbon, nutrient and metal in humic lakes of permafrost peatlands. *Sci. Total Environ.* 139671. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139671>
- Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., Kirpotin, S.N., Desmukh, C., Pokrovsky, B.G., Audry, S., Viers, J., 2013. Biogeochemistry of organic carbon, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and trace elements in thermokarst water bodies in discontinuous permafrost zones of Western Siberia. *Biogeochemistry* 113, 573–593. <https://doi.org/10.1007/s10533-012-9790-4>
- Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., Kirpotin, S.N., Dupré, B., 2009. Heterotrophic bacterioplankton in thawed lakes of the northern part of Western Siberia controls the CO<sub>2</sub> flux to the atmosphere. *Int. J. Environ. Stud.* 66, 433–445. <https://doi.org/10.1080/00207230902758071>
- Shirokova, L.S., Pokrovsky, O.S., Viers, J., Klimov, S.I., Moreva, O.Y., Zabelina, S.A., Vorobieva, T.Y., Dupré, B., 2010. Diurnal variations of trace metals and heterotrophic bacterioplankton concentration in a small boreal lake of the White Sea basin. *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* 46, 67–75. <https://doi.org/10.1051/limn/2010011>
- Slater, A.G., Lawrence, D.M., 2013. Diagnosing present and future permafrost from climate models. *J. Clim.* 26, 5608–5623. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00341.1>
- Sommerfeld, R.A., Mosier, A.R., Musselman, R.C., 1993. CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O flux through a Wyoming snowpack and implications for global budgets. *Nature* 361, 140–142. <https://doi.org/10.1038/361140a0>
- Søndergaard, Middelboe, 1995. A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 118, 283–294. <https://doi.org/10.3354/meps118283>
- Song, C., Wang, X., Miao, Y., Wang, J., Mao, R., Song, Y., 2014. Effects of permafrost thaw on carbon emissions under aerobic and anaerobic environments in the Great Hing'an Mountains, China. *Sci. Total Environ.* 487, 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.083>
- Spafford, L., Risk, D., 2018. Spatiotemporal variability in lake-atmosphere net CO<sub>2</sub> exchange in the littoral zone of an oligotrophic lake. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 123, 1260–1276. <https://doi.org/10.1002/2017JG004115>
- Spencer, R.G.M., Bolton, L., Baker, A., 2007a. Freeze/thaw and pH effects on freshwater dissolved organic matter fluorescence and absorbance properties from a number of

- UK locations. *Water Res.* 41, 2941–2950. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.04.012>
- Spencer, R.G.M., Mann, P.J., Dittmar, T., Eglinton, T.I., McIntyre, C., Holmes, R.M., Zimov, N., Stubbins, A., 2015. Detecting the signature of permafrost thaw in Arctic rivers. *Geophys. Res. Lett.* 42, 2830–2835. <https://doi.org/10.1002/2015GL063498>
- Spencer, R.G.M., Pellerin, B.A., Bergamaschi, B.A., Downing, B.D., Kraus, T.E.C., Smart, D.R., Dahlgren, R.A., Hernes, P.J., 2007b. Diurnal variability in riverine dissolved organic matter composition determined by in situ optical measurement in the San Joaquin River (California, USA). *Hydrol. Process.* 21, 3181–3189. <https://doi.org/10.1002/hyp.6887>
- Squires, M.M., Lesack, L.F.W., Hecky, R.E., Guildford, S.J., Ramlal, P., Higgins, S.N., 2009. Primary Production and Carbon Dioxide Metabolic Balance of a Lake-Rich Arctic River Floodplain: Partitioning of Phytoplankton, Epipelon, Macrophyte, and Epiphyton Production Among Lakes on the Mackenzie Delta. *Ecosystems* 12, 853–872. <https://doi.org/10.1007/s10021-009-9263-3>
- Stefanowicz, A., 2006. The Biolog Plates Technique as a tool in ecological studies of microbial communities. *Pol. J. Environ. Stud.* 15.
- Steinen, H., 1982. Sugar proof in the cell walls of four cryptogams. *Biochem Physiol Pflanz* 177, 629–631.
- Steinweg, J.M., Plante, A.F., Conant, R.T., Paul, E.A., Tanaka, D.L., 2008. Patterns of substrate utilization during long-term incubations at different temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2722–2728. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.07.002>
- Stolpe, B., Guo, L., Shiller, A.M., Aiken, G.R., 2013. Abundance, size distributions and trace-element binding of organic and iron-rich nanocolloids in Alaskan rivers, as revealed by field-flow fractionation and ICP-MS. *Geochim. Cosmochim. Acta* 105, 221–239. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2012.11.018>
- Stres, B., Philippot, L., Faganeli, J., Tiedje, J.M., 2010. Frequent freeze–thaw cycles yield diminished yet resistant and responsive microbial communities in two temperate soils: a laboratory experiment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74, 323–335. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00951.x>
- Striegl, R.G., Aiken, G.R., Dornblaser, M.M., Raymond, P.A., Wickland, K.P., 2005. A decrease in discharge-normalized DOC export by the Yukon River during summer through autumn. *Geophys. Res. Lett.* 32. <https://doi.org/10.1029/2005GL024413>
- Su, W., Zhou, Z., Jiang, F., Chang, X., Liu, Y., Wang, S., Kan, W., Xiao, M., Shao, M., Peng, F., Fang, C., 2013. *Iodobacter limnosediminis* sp. nov., isolated from Arctic lake sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 1464–1470. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.039982-0>
- Sugimoto, A., Wada, E., 1993. Carbon isotopic composition of bacterial methane in a soil incubation experiment: Contributions of acetate and CO<sub>2</sub>H<sub>2</sub>. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 4015–4027.
- Szyper, J.P., Rosenfeld, J.Z., Piedrahita, R.H., Giovannini, P., 1992. Diel cycles of planktonic respiration rates in briefly incubated water samples from a fertile earthen pond. *Limnol. Oceanogr.* 37, 1193–1201. <https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.6.1193>



- Tang, J., Yurova, A.Y., Schurgers, G., Miller, P.A., Olin, S., Smith, B., Siewert, M.B., Olefeldt, D., Pilesjö, P., Poska, A., 2018. Drivers of dissolved organic carbon export in a subarctic catchment: Importance of microbial decomposition, sorption-desorption, peatland and lateral flow. *Sci. Total Environ.* 622–623, 260–274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.252>
- Tank, S.E., Lesack, L.F.W., Gareis, J.A.L., Osburn, C.L., Hesslein, R.H., 2011. Multiple tracers demonstrate distinct sources of dissolved organic matter to lakes of the Mackenzie Delta, western Canadian Arctic. *Limnol. Oceanogr.* 56, 1297–1309. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.4.1297>
- Tarnocai, C., Stolbovoy, V., 2006. Northern peatlands: their characteristics, development and sensitivity to climate change. *Dev. Earth Surf. Process.* 9, 17–51.
- Textor, S.R., Wickland, K.P., Podgorski, D.C., Johnston, S.E., Spencer, R.G.M., 2019. Dissolved organic carbon turnover in permafrost-influenced watersheds of interior Alaska: molecular insights and the priming effect. *Front. Earth Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/feart.2019.00275>
- Theander, O., Soling, H., Matikkala, E.J., Sörensen, N.A., 1954. Studies on sphagnum peat. iii. a quantitative study on the carbohydrate constituents of sphagnum mosses and sphagnum Peat. *Acta Chem. Scand.* 8, 989–1000. <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.08-0989>
- Thurman, E.M., 1985. Aquatic Humic Substances, in: Thurman, E.M. (Ed.), *Organic geochemistry of natural waters, developments in biogeochemistry*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 273–361. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5095-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5095-5_11)
- Tierney, G.L., Fahey, T.J., Groffman, P.M., Hardy, J.P., Fitzhugh, R.D., Driscoll, C.T., 2001. Soil freezing alters fine root dynamics in a northern hardwood forest. *Biogeochemistry* 56, 175–190. <https://doi.org/10.1023/A:1013072519889>
- Tockner, K., Uehlinger, U., Robinson, C.T., 2009. *Rivers of Europe*. Academic Press.
- Tranvik, L.J., 1989. Bacterioplankton growth, grazing mortality and quantitative relationship to primary production in a humic and a clearwater lake. *J. Plankton Res.* 11, 985–1000. <https://doi.org/10.1093/plankt/11.5.985>
- Tranvik, L.J., 1988. Availability of dissolved organic carbon for planktonic bacteria in oligotrophic lakes of differing humic content. *Microb. Ecol.* 16, 311–322. <https://doi.org/10.1007/BF02011702>
- Tranvik, L.J., Jørgensen, N.O., 1995. Colloidal and dissolved organic matter in lake water: carbohydrate and amino acid composition, and ability to support bacterial growth. *Biogeochemistry* 30, 77–97.
- Treat, C.C., Wollheim, W.M., Varner, R.K., Grandy, A.S., Talbot, J., Frohking, S., 2014. Temperature and peat type control CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> production in Alaskan permafrost peats. *Glob. Change Biol.* 20, 2674–2686. <https://doi.org/10.1111/gcb.12572>
- Trotsenko, Y.A., Khmelenina, V.N., 2005. Aerobic methanotrophic bacteria of cold ecosystems. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53, 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.02.010>

- Tsuneda, A., Thormann, M.N., Currah, R.S., 2001. Modes of cell-wall degradation of *Sphagnum fuscum* by *Acremonium* cf. *curvulum* and *Oidiodendron maius*. *Can. J. Bot.* 79, 93–100. <https://doi.org/10.1139/b00-149>
- Tukey, J.W., 1977. *Exploratory data analysis*. Reading, Mass.
- Turetsky, M.R., Abbott, B.W., Jones, M.C., Anthony, K.W., Olefeldt, D., Schuur, E.A.G., Grosse, G., Kuhry, P., Hugelius, G., Koven, C., Lawrence, D.M., Gibson, C., Sannel, A.B.K., McGuire, A.D., 2020. Carbon release through abrupt permafrost thaw. *Nat. Geosci.* 13, 138–143. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0526-0>
- Turetsky, M.R., Abbott, B.W., Jones, M.C., Anthony, K.W., Olefeldt, D., Schuur, E.A.G., Koven, C., McGuire, A.D., Grosse, G., Kuhry, P., Hugelius, G., Lawrence, D.M., Gibson, C., Sannel, A.B.K., 2019. Permafrost collapse is accelerating carbon release. *Nature* 569, 32–34. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-01313-4>
- Turetsky, M.R., Crow, S.E., Evans, R.J., Vitt, D.H., Wieder, R.K., 2008. Trade-offs in resource allocation among moss species control decomposition in boreal peatlands. *J. Ecol.* 96, 1297–1305. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01438.x>
- Turunen, J., Tolonen, K., Tolvanen, S., Remes, M., Ronkainen, J., Jungner, H., 1999. Carbon accumulation in the mineral subsoil of boreal mires. *Glob. Biogeochem. Cycles* 13, 71–79. <https://doi.org/10.1029/1998GB900008>
- Vachon, D., Prairie, Y.T., Cole, J.J., 2010. The relationship between near-surface turbulence and gas transfer velocity in freshwater systems and its implications for floating chamber measurements of gas exchange. *Limnol. Oceanogr.* 55, 1723–1732. <https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.4.1723>
- Vale, R., Santana, R., Gomes, A.C., Tóta, J., Vale, R., Santana, R., Gomes, A.C., Tóta, J., 2018. Increased nocturnal CO<sub>2</sub> concentration during breeze circulation events in a tropical reservoir. *Rev. Ambiente Amp Água* 13. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2186>
- Valle, J., Gonsior, M., Harir, M., Enrich-Prast, A., Schmitt-Kopplin, P., Bastviken, D., Conrad, R., Hertkorn, N., 2018. Extensive processing of sediment pore water dissolved organic matter during anoxic incubation as observed by high-field mass spectrometry (FTICR-MS). *Water Res.* 129, 252–263. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.015>
- van Bodegom, P.M., Scholten, J.C.M., Stams, A.J.M., 2004. Direct inhibition of methanogenesis by ferric iron. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49, 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.03.017>
- van Breemen, N., 1995. How *Sphagnum* bogs down other plants. *Trends Ecol. Evol.* 10, 270–275. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(95\)90007-1](https://doi.org/10.1016/0169-5347(95)90007-1)
- van Huissteden, J., Dolman, A., 2012. Soil carbon in the Arctic and the permafrost carbon feedback. *Curr. Opin. Environ. Sustain., Terrestrial systems* 4, 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.09.008>
- Vesala, T., Huotari, J., Rannik, Ü., Suni, T., Smolander, S., Sogachev, A., Launiainen, S., Ojala, A., 2006. Eddy covariance measurements of carbon exchange and latent and sensible heat fluxes over a boreal lake for a full open-water period. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 111. <https://doi.org/10.1029/2005JD006365>

- Vestgarden, L.S., Austnes, K., 2009. Effects of freeze–thaw on C and N release from soils below different vegetation in a montane system: a laboratory experiment. *Glob. Change Biol.* 15, 876–887. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01722.x>
- Vigneron, A., Lovejoy, C., Cruaud, P., Kalenitchenko, D., Culley, A., Vincent, W.F., 2019. Contrasting winter versus summer microbial communities and metabolic functions in a permafrost thaw lake. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01656>
- Viollier, E., Michard, G., Jézéquel, D., Pèpe, M., Sarazin, G., 1997. Geochemical study of a crater lake: Lake Pavin, Puy de Dôme, France. Constraints afforded by the particulate matter distribution in the element cycling within the lake. *Chem. Geol.* 142, 225–241. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(97\)00093-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(97)00093-4)
- Vishnivetskaya, T., Kathariou, S., McGrath, J., Gilichinsky, D., Tiedje, J.M., 2000. Low-temperature recovery strategies for the isolation of bacteria from ancient permafrost sediments. *Extremophiles* 4, 165–173.
- Vitt, D.H., 2006. Functional characteristics and indicators of boreal peatlands, in: Wieder, R.K., Vitt, D.H. (Eds.), *Boreal Peatland Ecosystems*, Ecological Studies. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 9–24. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9_2)
- Vitt, D.H., Halsey, L.A., Bauer, I.E., Campbell, C., 2000. Spatial and temporal trends in carbon storage of peatlands of continental western Canada through the Holocene. *Can. J. Earth Sci.* 37, 683–693. <https://doi.org/10.1139/cjes-37-5-683>
- Vonk, J., Tank, S., Mann, P., Spencer, R., Treat, C., Striegl, R., Abbott, B., Wickland, K., 2015a. Biodegradability of dissolved organic carbon in permafrost soils and aquatic systems: a meta-analysis. *Biogeosciences* BG 12, 6915–6930.
- Vonk, J.E., Gustafsson, Ö., 2013. Permafrost-carbon complexities. *Nat. Geosci.* 6, 675–676. <https://doi.org/10.1038/ngeo1937>
- Vonk, J.E., Tank, S.E., Bowden, W.B., Laurion, I., Vincent, W.F., Alekseychik, P., Amyot, M., Billet, M.F., Canario, J., Cory, R.M., Deshpande, B.N., Helbig, M., Jammet, M., Karlsson, J., Larouche, J., MacMillan, G., Rautio, M., Anthony, K.M.W., Wickland, K.P., 2015b. Reviews and syntheses : Effects of permafrost thaw on Arctic aquatic ecosystems. *Biogeosciences* 12, 7129–7167.
- Vonk, J.E., Tank, S.E., Walvoord, M.A., 2019. Integrating hydrology and biogeochemistry across frozen landscapes. *Nat. Commun.* 10, 1–4. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13361-5>
- Vorobyev, S.N., Pokrovsky, O.S., Kolesnichenko, L.G., Manasyrov, R.M., Shirokova, L.S., Karlsson, J., Kirpotin, S.N., 2019. Biogeochemistry of dissolved carbon, major, and trace elements during spring flood periods on the Ob River. *Hydrol. Process.* 33, 1579–1594. <https://doi.org/10.1002/hyp.13424>
- Wagner, D., Liebner, S., 2009. Global warming and carbon dynamics in permafrost soils: methane production and oxidation, in: Margesin, R. (Ed.), *Permafrost Soils*, Soil Biology. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 219–236. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-69371-0\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-540-69371-0_15)

- Waldrop, M.P., Wickland, K.P., Iij, R.W., Berhe, A.A., Harden, J.W., Romanovsky, V.E., 2010. Molecular investigations into a globally important carbon pool: permafrost-protected carbon in Alaskan soils. *Glob. Change Biol.* 16, 2543–2554. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02141.x>
- Walker, D.A., Reynolds, M.K., Daniëls, F.J.A., Einarsson, E., Elvebakk, A., Gould, W.A., Katenin, A.E., Kholod, S.S., Markon, C.J., Melnikov, E.S., Moskalenko, N.G., Talbot, S.S., Yurtsev, B.A.(†), Team, T. other members of the C., 2005. The Circumpolar Arctic vegetation map. *J. Veg. Sci.* 16, 267–282. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2005.tb02365.x>
- Walter Anthony, K., Schneider von Deimling, T., Nitze, I., Froking, S., Emond, A., Daanen, R., Anthony, P., Lindgren, P., Jones, B., Grosse, G., 2018. 21st-century modeled permafrost carbon emissions accelerated by abrupt thaw beneath lakes. *Nat. Commun.* 9. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05738-9>
- Walter Anthony, K.M., Anthony, P., Grosse, G., Chanton, J., 2012. Geologic methane seeps along boundaries of Arctic permafrost thaw and melting glaciers. *Nat. Geosci.* 5, 419–426. <https://doi.org/10.1038/ngeo1480>
- Walvoord, M.A., Striegl, R.G., 2007. Increased groundwater to stream discharge from permafrost thawing in the Yukon River basin: Potential impacts on lateral export of carbon and nitrogen. *Geophys. Res. Lett.* 34. <https://doi.org/10.1029/2007GL030216>
- Ward, C.P., Nalven, S.G., Crump, B.C., Kling, G.W., Cory, R.M., 2017. Photochemical alteration of organic carbon draining permafrost soils shifts microbial metabolic pathways and stimulates respiration. *Nat. Commun.* 8, 772. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00759-2>
- Weber, K.P., Legge, R.L., 2009. One-dimensional metric for tracking bacterial community divergence using sole carbon source utilization patterns. *J. Microbiol. Methods* 79, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.07.020>
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4702–4708. <https://doi.org/10.1021/es030360x>
- Weiss, R.F., 1974. Carbon dioxide in water and seawater: the solubility of a non-ideal gas. *Mar. Chem.* 2, 203–215. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(74\)90015-2](https://doi.org/10.1016/0304-4203(74)90015-2)
- Wheeler, B.D., Proctor, M.C.F., 2000. Ecological gradients, subdivisions and terminology of north-west European mires. *J. Ecol.* 88, 187–203. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00455.x>
- Whiticar, M.J., 1999. Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane. *Chem. Geol.* 161, 291–314. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(99\)00092-3](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00092-3)
- Wickland, K.P., Aiken, G.R., Butler, K., Dornblaser, M.M., Spencer, R.G.M., Striegl, R.G., 2012. Biodegradability of dissolved organic carbon in the Yukon River and its tributaries: Seasonality and importance of inorganic nitrogen: biodegradable doc in the Yukon River. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1029/2012GB004342>

- Wickland, K.P., Neff, J.C., Aiken, G.R., 2007. Dissolved organic carbon in Alaskan boreal forest: sources, chemical characteristics, and biodegradability. *Ecosystems* 10, 1323–1340. <https://doi.org/10.1007/s10021-007-9101-4>
- Wieder, R.K., Vitt, D.H., Benscoter, B.W., 2006. Peatlands and the Boreal Forest, in: Wieder, R.K., Vitt, D.H. (Eds.), *Boreal Peatland Ecosystems*, Ecological Studies. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 1–8. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-540-31913-9_1)
- Wik, M., Crill, P.M., Varner, R.K., Bastviken, D., 2013. Multiyear measurements of ebullitive methane flux from three subarctic lakes. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 118, 1307–1321. <https://doi.org/10.1002/jgrg.20103>
- Wright, J.C., Mills, I.K., 1967. Productivity Studies on the Madison River, Yellowstone National Park1. *Limnol. Oceanogr.* 12, 568–577. <https://doi.org/10.4319/lo.1967.12.4.0568>
- Xiao, L., Zhang, Yang, Li, P., Xu, G., Shi, P., Zhang, Yi, 2019. Effects of freeze-thaw cycles on aggregate-associated organic carbon and glomalin-related soil protein in natural-succession grassland and Chinese pine forest on the Loess Plateau. *Geoderma* 334, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.043>
- Xiao, S., Wang, C., Wilkinson, R.J., Liu, D., Zhang, C., Xu, W., Yang, Z., Wang, Y., Lei, D., 2016. Theoretical model for diffusive greenhouse gas fluxes estimation across water-air interfaces measured with the static floating chamber method. *Atmos. Environ.* 137, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.04.036>
- Xue, S., Wen, Y., Hui, X., Zhang, L., Zhang, Z., Wang, J., Zhang, Y., 2015. The migration and transformation of dissolved organic matter during the freezing processes of water. *J. Environ. Sci.* 27, 168–178. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.05.035>
- Yamamoto, S., Alcauskas, J.B., Crozier, T.E., 1976. Solubility of methane in distilled water and seawater. *J. Chem. Eng. Data* 21, 78–80. <https://doi.org/10.1021/je60068a029>
- Yang, R., Chen, B., Liu, H., Liu, Z., Yan, H., 2015. Carbon sequestration and decreased CO<sub>2</sub> emission caused by terrestrial aquatic photosynthesis: Insights from diel hydrochemical variations in an epikarst spring and two spring-fed ponds in different seasons. *Appl. Geochem.* 63, 248–260. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.09.009>
- Yang, R., Xu, Z., Liu, S., Xu, Y.J., 2019. Daily pCO<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> flux variations in a subtropical mesotrophic shallow lake. *Water Res.* 153, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.01.012>
- Yang, Z., Wullschleger, S.D., Liang, L., Graham, D.E., Gu, B., 2016. Effects of warming on the degradation and production of low-molecular-weight labile organic carbon in an Arctic tundra soil. *Soil Biol. Biochem.* 95, 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.12.022>
- Young, K.C., Docherty, K.M., Maurice, P.A., Bridgman, S.D., 2005. Degradation of surface-water dissolved organic matter: influences of DOM chemical characteristics and microbial populations. *Hydrobiologia* 539, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-3079-0>

- Yu, X., Zou, Y., Jiang, M., Lu, X., Wang, G., 2011. Response of soil constituents to freeze–thaw cycles in wetland soil solution. *Soil Biol. Biochem.* 43, 1308–1320. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.002>
- Yvon-Durocher, G., Allen, A.P., Bastviken, D., Conrad, R., Gudas, C., St-Pierre, A., Thanh-Duc, N., del Giorgio, P.A., 2014. Methane fluxes show consistent temperature dependence across microbial to ecosystem scales. *Nature* 507, 488–491. <https://doi.org/10.1038/nature13164>
- Zak, J.C., Willig, M.R., Moorhead, D.L., Wildman, H.G., 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1101–1108. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90131-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90131-7)
- Zakharova, E.A., Kouraev, A.V., Kolmakova, M.V., Mognard, N.M., Zemtsov, V.A., Kirpotin, S.N., 2009. The modern hydrological regime of the northern part of Western Siberia from in situ and satellite observations. *Int. J. Environ. Stud.* 66, 447–463. <https://doi.org/10.1080/00207230902823578>
- Zaritzky, N., 2006. Physical-chemical principles in freezing. *FOOD Sci. Technol.-N. Y.-Marcel Dekker-* 155, 3.
- Zimov, S.A., Voropaev, Y.V., Semiletov, I.P., Davidov, S.P., Prosiannikov, S.F., Chapin, F.S., Chapin, M.C., Trumbore, S., Tyler, S., 1997. North Siberian Lakes: A methane source fueled by Pleistocene carbon. *Science* 277, 800–802. <https://doi.org/10.1126/science.277.5327.800>
- Zirino, A., Fuhrmann, R.A., Oksanen-Gooden, D., Lieberman, S.H., Clavell, C., Seligman, P.F., Mathewson, J.H., Jones, W.D., Kogelschatz, J., Barber, R.T., 1986. pH-temperature-nutrient relationships in the eastern tropical Pacific Ocean. *Sci. Total Environ., Proceedings of the First International Conference* 58, 117–137. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(86\)90082-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(86)90082-3)

# Annexes

## Tableaux

### Chapitre 2

**Tableau 2 - S 1 :** Comparison of mean ( $\pm$  s.d.) pH, DOC, DIC, SUVA and trace element concentrations during normal summer in Lake Trisino (2015, 2016) and Pond Chernoe (2013, 2015, 2016) and the present measurements in July 2018.

Parameters	Trisino		Chernoe	
	Previous study 2015, 2016	Our study 2018	Previous study 2013, 2015, 2016	Our study 2018
pH	4.19 $\pm$ 0.09	3.86 $\pm$ 0.11	4.1 $\pm$ 0.18	3.71 $\pm$ 0.17
DOC, mg L <sup>-1</sup>	20.3 $\pm$ 1.21	15.3 $\pm$ 1.2	45.2 $\pm$ 11.1	34.3 $\pm$ 2.23
DIC, mg L <sup>-1</sup>	0.5 $\pm$ 0.08	0.58 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.12	0.65 $\pm$ 0.09
SUVA <sub>245</sub>	5.6 $\pm$ 0.94	4.6 $\pm$ 0.35	4.19 $\pm$ 0.61	5.06 $\pm$ 0.37
Al, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	126 $\pm$ 26.7	63.2 $\pm$ 2.13	138 $\pm$ 42.2	134 $\pm$ 5.35
Si, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	106 $\pm$ 28.8	150 $\pm$ 37.7	236 $\pm$ 230	212 $\pm$ 52.6
V, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.68 $\pm$ 0.18	0.88 $\pm$ 0.02	0.55 $\pm$ 0.13	0.99 $\pm$ 0.04
Cr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.7 $\pm$ 0.18	0.34 $\pm$ 0.05	0.63 $\pm$ 0.31	0.62 $\pm$ 0.08
Mn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	10 $\pm$ 0.09	8.91 $\pm$ 0.26	35.3 $\pm$ 9.32	20.1 $\pm$ 0.47
Fe, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	172 $\pm$ 13.2	90.1 $\pm$ 3.48	200 $\pm$ 27.8	273 $\pm$ 18
Cu, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.97 $\pm$ 0.54	0.17 $\pm$ 0.07	0.82 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.08
Zn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	12.3 $\pm$ 6.92	5.48 $\pm$ 3.25	12.8 $\pm$ 3.54	7.93 $\pm$ 3.89
As, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.48 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.01	0.85 $\pm$ 0.19	0.52 $\pm$ 0.01
Cd, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.17 $\pm$ 0.14	0.01 $\pm$ 0.003	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.002
Pb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.57 $\pm$ 0.32	0.13 $\pm$ 0.04	0.32 $\pm$ 0.49	0.36 $\pm$ 0.04

**Tableau 2 - S2** : Median ( $\pm$  IQR) concentration in lakes Trisino and Chernoe during the day and the night period. \*SC – Specific conductivity.

Variable	Trisino		Chernoe	
	2 days	2 nights	2 days	2 nights
T <sub>water</sub> , °C	20.7 $\pm$ 1.9	20.1 $\pm$ 3.4	21.6 $\pm$ 2.6	19.2 $\pm$ 3.3
T <sub>air</sub> , °C	21.2 $\pm$ 7.6	16 $\pm$ 4.9	21.2 $\pm$ 7.2	15.7 $\pm$ 5.6
pH	3.89 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.02	3.72 $\pm$ 0.24	3.67 $\pm$ 0.14
SC*, $\mu$ S cm <sup>-1</sup>	19 $\pm$ 2.1	19 $\pm$ 1.3	29 $\pm$ 1	29 $\pm$ 2.6
flux CO <sub>2</sub> , g C m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup>	-0.01 $\pm$ 0.08	0.06 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.14	0.15 $\pm$ 0.07
CH <sub>4</sub> , $\mu$ mol L <sup>-1</sup>	0.23 $\pm$ 0.17	0.3 $\pm$ 0.17	4.4 $\pm$ 0.17	4.84 $\pm$ 1.45
CO <sub>2</sub> , ppmv	440 $\pm$ 270	705 $\pm$ 230	760 $\pm$ 350	1190 $\pm$ 210
DIC, mg L <sup>-1</sup>	0.59 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.04	0.64 $\pm$ 0.1	0.68 $\pm$ 0.04
DOC, mg L <sup>-1</sup>	15.2 $\pm$ 1.31	15.5 $\pm$ 0.57	34.6 $\pm$ 2.08	34.3 $\pm$ 3.74
SUVA <sub>254</sub>	4.61 $\pm$ 0.38	4.54 $\pm$ 0.17	4.98 $\pm$ 0.36	5.08 $\pm$ 0.49
Li, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.64 $\pm$ 0.02	0.65 $\pm$ 0.01	0.59 $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.02
B, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	3.41 $\pm$ 0.92	3.50 $\pm$ 1.07	5.88 $\pm$ 3.49	5.78 $\pm$ 0.86
Na, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	370 $\pm$ 32.8	374 $\pm$ 21	336 $\pm$ 57	333 $\pm$ 39.6
Mg, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	243 $\pm$ 2.5	243 $\pm$ 3.9	434 $\pm$ 7	438 $\pm$ 28.5
Al, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	63.2 $\pm$ 2.02	63.4 $\pm$ 5.73	133 $\pm$ 4.5	135 $\pm$ 6
Si, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	154 $\pm$ 48.8	147 $\pm$ 31.3	212 $\pm$ 52.3	217 $\pm$ 53.5
K, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	86.6 $\pm$ 16.3	82.2 $\pm$ 26.9	82.9 $\pm$ 29.5	86.5 $\pm$ 49.3
Ca, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	44.2 $\pm$ 16.2	41.8 $\pm$ 21.7	534 $\pm$ 25	559 $\pm$ 88
Mn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	8.91 $\pm$ 0.26	8.89 $\pm$ 0.17	20 $\pm$ 0.39	20.5 $\pm$ 0.79
Fe, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	90.3 $\pm$ 3.87	89.5 $\pm$ 3.06	273 $\pm$ 9.6	271 $\pm$ 23.4
Co, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.06 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.01
Ni, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.22 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.09	0.38 $\pm$ 0.12
Cu, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.17 $\pm$ 0.09	0.17 $\pm$ 0.06	0.45 $\pm$ 0.07	0.45 $\pm$ 0.1
Zn, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	6.01 $\pm$ 4.79	4.53 $\pm$ 2.43	7.29 $\pm$ 3.86	8.52 $\pm$ 2.68
As, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.32 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.03
Rb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.03 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.08
Sr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	1.95 $\pm$ 0.05	1.89 $\pm$ 0.19	4.38 $\pm$ 0.11	4.40 $\pm$ 0.34
Y, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.03 $\pm$ 0.002	0.03 $\pm$ 0.002	0.03 $\pm$ 0.003	0.03 $\pm$ 0.003
Pb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.14 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.03	0.39 $\pm$ 0.1
Ti, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.42 $\pm$ 0.05	0.4 $\pm$ 0.03	1.35 $\pm$ 0.06	1.4 $\pm$ 0.1
V, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.88 $\pm$ 0.03	0.88 $\pm$ 0.02	0.99 $\pm$ 0.05	0.99 $\pm$ 0.02
Cr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.35 $\pm$ 0.05	0.32 $\pm$ 0.05	0.63 $\pm$ 0.08	0.61 $\pm$ 0.02
Zr, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.05 $\pm$ 0.003	0.05 $\pm$ 0.01	0.1 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01
Mo, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.004 $\pm$ 0.002	0.005 $\pm$ 0.003	0.01 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.003
Cd, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.003	0.01 $\pm$ 0.004	0.03 $\pm$ 0.003	0.03 $\pm$ 0.002
Sb, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.04 $\pm$ 0.003	0.04 $\pm$ 0.001	0.04 $\pm$ 0.004	0.04 $\pm$ 0.002
Cs, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.00 $\pm$ 0.0005	0.001 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.001
Ba, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	2.09 $\pm$ 0.24	2.06 $\pm$ 0.24	4.11 $\pm$ 0.28	4.42 $\pm$ 0.41
La, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.002	0.01 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.002
Ce, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.02 $\pm$ 0.004	0.02 $\pm$ 0.003	0.05 $\pm$ 0.004	0.05 $\pm$ 0.001
Th, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.01 $\pm$ 0.0008	0.01 $\pm$ 0.0005	0.02 $\pm$ 0.001	0.02 $\pm$ 0.0004
U, $\mu$ g L <sup>-1</sup>	0.002 $\pm$ 0.0004	0.002 $\pm$ 0.0004	0.01 $\pm$ 0.001	0.01 $\pm$ 0.001



### Chapitre 3

**Tableau 3 - S 1:** Localization, lake or watershed area, waters depth, and physico-chemical and biological parameters of field waters location.

Site	water body	GPS coordinates		mineral soil contact	Lake (m <sup>2</sup> ) or watershed ( km <sup>2</sup> ) area	Waters depth (cm)	pH	Conductivity (μS cm <sup>-1</sup> )	DOC (mg L <sup>-1</sup> )	DIC (mg L <sup>-1</sup> )	SUVA <sub>254</sub> (L mgC <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> )	TBC (cell mL <sup>-1</sup> )	pCO <sub>2</sub> (ppm)
		Latitude (N)	Longitude (E)										
Khanymey	Soil solution - mound	63°47'05.2"	75°38'39.8"	no		45	4.2	47	34.6	1.0	4.2	5.06E+05	12750
	Soil solution - hollow	63°47'05.7"	75°38'42.3"	no		16	4.8	42	24.6	1.1	3.5	1.19E+06	>30000
	Chernoe lake	63°46'56.9"	75°39'12.4"	no	1,830 m <sup>2</sup>	30	4.3	26	20.5	0.5	3.7	6.39E+05	620
	Trisino lake	63°47'08.4"	75°39'00.7"	no	16,920 m <sup>2</sup>	50	5.9	19	8.1	0.5	3.8	2.89E+05	330
	Proximal stream	63°47'17.7"	75°39'44.7"	yes	4.2 km <sup>2</sup>	60	5.7	15	15.7	0.9	3.5	1.36E+06	4960
	Distal stream - Lymbydyakha	63°47'3.02"	75°37'5.16"	yes	115 km <sup>2</sup>	50	5.9	22	15.3	0.7	4.0	1.43E+06	2210
	Pyakopur river	63°49'41.85"	75°23'27.05"	yes	9,881 km <sup>2</sup>	120	6.0	32	7.4	0.7	4.3	8.44E+05	2842
Stordalen	Soil solution - hummock	68°21'5.66"	19°4'36.36"	no		35	5.7	100	78.6	3.8	3.4	2.08E+04	26478
	Crack	68°21'5.66"	19°4'36.36"	no		26	4.1	57	81.8	2.5	4.2	3.76E+04	>30000
	Small pond	68°21'5.66"	19°4'36.36"	no		49	4.6	27	38.2	1.7	4.9	2.31E+04	25362
	Fen	68°21'11.94"	19°2'48.25"	yes		14	6.6	26	11.2	1.8	4.0	1.80E+04	9578
	Villasjön lake	68°21'5.66"	19°4'36.92"	yes	170,000 m <sup>2</sup>	70	7.2	34	6.0	2.3	2.9	1.17E+04	580
	Proximal stream	68°21'24.88"	19°2'29.68"	yes		80	6.7	57	5.4	4.6	3.4	4.74E+03	1370
	Distal stream	68°21'1.3"	19°0'58.32"	yes		80	7.2	51	6.4	4.3	3.1	2.26E+03	1200

**Tableau 3 - S 2 :** List of fixation, storage and various analyses performed during natural water incubation in Khanymey and Stordalen experiments.

	Fixation	Storage	Khanymey (Siberia)	Stordalen (Sweden)
<b>Number of replicates per sampling</b>			2	3
<b>Time of incubation</b>			30	15
<b>Sampling day</b>			0 - 3 - 5 - 11 - 30	0 - 3 - 5 - 11 - 15
<b>Performed analyses</b>				
<b>pH and Conductivity</b>			yes	yes
<b>Absorbance (250-500 nm)</b>			yes	yes
<b>Fluorescence index (FI, Em 400-700 nm, Ex 370 nm)</b>	HCl		no	yes
<b>Dissolved Organic and Inorganic carbon (DOC and DIC)</b>	DOC : HCl 0.1N DIC: none	Fridge	yes	yes
<b>Organic acids and Anions concentrations</b>		Frozen till analyze	yes (first day)	yes
<b>Bacterial concentration (flux cytometry)</b>	glutaraldehyde	Fridge	yes	yes

**Tableau 3 - S 3 :** Calculation used on DOC, UV-visible absorbance and fluorescence data, similar to [Roehm et al. \(2009\)](#).

Index	Calculation	Use	Reference
<b>%BDOC</b>	$\frac{((DOC_{t=0} - DOC_{t=x}) / DOC_{t=0}) \times 100}{(a)}$	Biodegradable C	<a href="#">(Vonk et al., 2015a)</a>
<b>RDOC</b>	RDOC= Slope a ; DOC = a*t + b	Removal rate of DOC	
<b>SUVA<sub>254</sub></b>	100*A <sub>254</sub> /DOC <sup>(b)</sup>	Aromaticity proxy	<a href="#">(Abbt-Braun and Frimmel, 1999)</a>
<b>E2:E4</b>	A <sub>250</sub> /A <sub>400</sub> <sup>(b)</sup>	Humification proxy	<a href="#">(Park et al., 1999)</a>
<b>E4:E6**</b>	A <sub>465</sub> /A <sub>665**</sub>	Humifaction proxy**	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
<b>Molar absorptivity (MA)</b>	(A <sub>280</sub> *1000) / (DOC/12) <sup>(b)</sup>		<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
<b>WAMW</b>	(3.99 * MA) + 490	Normalized molecular weight	<a href="#">(Chin et al., 1994)</a>
<b>FI</b>	Em <sub>450</sub> /Em <sub>500</sub> (at Ex <sub>370</sub> ) <sup>(c)</sup>	Microbial/Terrestrial endmembers	<a href="#">(McKnight et al., 2001)</a>

<sup>(a)</sup> t<sub>x</sub> is the incubation time in days at day x

<sup>(b)</sup> A is the specific absorbance at the indicated wavelength (nm)

<sup>(c)</sup> Em is the emission intensity and Ex is the excitation intensity both at the indicated specific wavelength (nm)

\*\* This ratio could not have been calculated for both sites, as the absorbance of the 665 nm wavelength hasn't been measured for the Stordalen site.

**Tableau 3 - S 4 :** Concentrations of anions and organic acids in waters from the Khanymey (at the beginning of the incubation) and Stordalen (at the beginning and the end of incubation) hydrological continuum (“n.a.” indicates a non-detectable concentration and “0” indicate a concentration detected between 0 and 10 µg L<sup>-1</sup>).

		Day of incubation	PO4-P, µg L <sup>-1</sup>	Lactate, µg L <sup>-1</sup>	Acetate, µg L <sup>-1</sup>	Formate, µg L <sup>-1</sup>
<b>Khanymey</b>	soil solution - mound	0	19	392	1	9
	soil solution - hollow	0	18	38	3	7
	lake - Chernoe	0	17	67	4	8
	lake - Trisino	0	17	17	3	6
	proximal stream	0	4	16	1	5
	distal stream - Lymbydyakha	0	31	n.a.	1	4
	river - Pyakopur	0	37	41	n.a.	4
<b>Stordalen</b>	soil solution - hummock	0	17	68	2813	227
	crack	0	21	1588	20	10
	small pond	0	17	954	1	7
	fen	0	n.a.	n.a.	1	4
	lake - Villasjön	0	n.a.	141	9	4
	proximal stream	0	16	12	1	4
	distal stream	0	16	12	1	4
	soil solution - hummock	15	n.a.	103	606 ±335	162
	crack	15	22	n.a.	7	10
	small pond	15	18	69 ±17	10 ±6	6
	fen	15	n.a.	n.a.	5 ±2	5
	lake - Villasjön	15	17	189	3 ±1	5
	proximal stream	15	16	30	9 ±6	4
	distal stream	15	n.a.	6	4 ±2	4

**Tableau 3 - S 5 :** Apparent removal rate at 15 days of incubation (RDOC<sub>15</sub>), *p*-value and R<sup>2</sup> coefficient for Khanymey and Stordalen hydrological continuum on the total period of incubation. “\*” indicates non-significant *p*-value (*i.e.* > 0.05).

site	location	RDOC <sub>15</sub> (mg C L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	<i>p</i> -value	R <sup>2</sup>
Khanymey	Soil solution – mound	0.53 ± 0.1	3.27E-03	6.94E-01
	Soil solution – hollow	0.61 ± 0.1	9.28E-02*	2.58E-01
	Lake - Chernoe	-0.11 ± 0.1	4.69E-01*	5.45E-02
	Lake -Trisino	0.10 ± 0.1	4.56E-01*	4.96E-02
	Proximal stream	0.25 ± 0.1	2.91E-02	4.48E-01
	Distal stream – Lymbydyakha	0.20 ± 0.0	1.27E-02	5.56E-01
	River - Pyakopur	0.20 ± 0.1	2.88E-02	4.49E-01
Stordalen	Soil solution – hummock	1.03 ± 0.2	9.35E-08	9.26E-01
	Crack	0.25 ± 0.2	1.46E-01*	1.08E-01
	Small pond	0.27 ± 0.2	4.02E-03	5.02E-01
	Fen	0.07 ± 0.0	1.06E-02	4.13E-01
	Lake – Villasjön	0.05 ± 0.0	1.76E-03	5.69E-01
	Proximal stream	0.03 ± 0.0	1.30E-04	7.27E-01
	Distal stream	0.07 ± 0.0	7.92E-04	6.25E-01

**Tableau 3 - S 6 :** Eigenvalue and Variance of PCA between Khanymey and Stordalen continuums (“Both sites”) and for each continuum (“Khanymey” and “Stordalen”), and the contribution of each variable to each PC (Principal Component).

Principal Component	PC1	PC2
<b>Eigenvalue</b>	4.4	3.5
<b>Variance, %</b>	34.0	26.9
	<b>pH</b>	5.9
	<b>conductivity</b>	14.3
	<b>DOC</b>	18.4
	<b>BDOC<sub>15</sub></b>	0.0
	<b>SUVA<sub>254</sub></b>	1.0
<b>Contribution</b>	<b>E2:E4 ratio</b>	2.4
<b>of variable to</b>	<b>TBC</b>	4.0
<b>PC, %</b>	<b>WAMW</b>	9.6
	<b>PO4-P</b>	1.1
	<b>lactate</b>	5.9
	<b>acetate</b>	11.2
	<b>formate</b>	11.8
	<b>RDOC<sub>15</sub></b>	14.6

## Chapitre 4

**Tableau 4 - S 1 :** GPS localization of sampled area of OC origins used in this study. Substrates (soils, vegetations and natural waters) were collected in July 2017.

	OM origins	latitude	longitude
Natural waters	Depression ( $S_{\text{area}} = 0.12 \text{ m}^2$ )	67° 39' 49.968"	53° 23' 46.787"
	Thermokarst lake ( $S_{\text{area}} = 33,4711\text{m}^2$ )	67° 37' 4.238"	53° 53' 55.86"
	Pechora River	67° 36' 52.38"	53° 50' 32.82"
Peat	Active layer (20-30 cm)	67 ° 37' 6.06"	53° 54' 2.34"
	Permafrost layer (30-40 cm)	67 ° 37' 6.06"	53° 54' 2.34"
Vegetation	Lichen ( <i>cladonia</i> )	67 ° 37' 6.06"	53° 54' 2.34"
	Sphagnum ( <i>augustifolium and fuscum</i> )	67 ° 37' 6.06"	53° 54' 2.34"

**Tableau 4 - S 2 :** Boxplots limits ( $\text{mg L}^{-1}$ ) of DOC concentrations used to determine outliers' data. ( $D_1$ : first decile;  $Q_1$ : first quartile;  $Q_2$ : median;  $Q_3$ : third quartile and  $D_9$ : last decile).

	DOC Boxplot limits ( $\text{mg L}^{-1}$ )					information on removed samples		
	$D_1$	$Q_1$	$Q_2$	$Q_3$	$D_9$	cycle	number of removed replicate (out of 2)	DOC concentrations ( $\text{mg L}^{-1}$ )
active layer	20.83	22.34	22.62	23.34	24.35	3	1	24.87
permafrost	21.77	22.53	22.83	23.04	23.55	1	1	23.85
						5	1	25.28
lichen	50.21	51.52	51.87	52.39	53.26	6	1	54.57
moss	21.66	22.79	23.01	23.54	24.29	9	1	24.42
depression	104.27	105.99	106.86	107.14	108.29	1	1	98.94
						3	1	108.73
thermokarst lake	8.80	9.52	9.83	9.99	10.47	1	2	10.90 and 12.30
						9	1	10.48
Pechora River	6.68	7.73	8.06	8.44	9.14	-	-	-

**Tableau 4 - S 3** : Percent variation (mean  $\pm$ sd) of each measured parameter between the prior freezing stage (FTC0) and the last freezing stage (FTC9). Orange cases indicates an increase (dark orange: increase > 10% compare to initial stage; light orange : 5 to 10% increase); grey cases indicates relatively stables variation (-5 to 5% variations); and blue cases indicates a decrease (dark blue: decrease > 10%; light blue: 5 to 10% decrease).

parameter	active layer	permafrost	lichen	moss	depression	thermokarst lake	Pechora River
pH	17,1 $\pm$ 10	5,5 $\pm$ 3	2,4 $\pm$ 5	1,2	-8,7 $\pm$ 3	-0,1	2,2 $\pm$ 2
Conductivity	-28,8 $\pm$ 23	-6,0 $\pm$ 2	2,0 $\pm$ 5	-1,3	-2,4 $\pm$ 2	-4,2	-1,7 $\pm$ 2
DIC	-3,4 $\pm$ 8	-7,4 $\pm$ 8	-31,5 $\pm$ 8	-35,3	-13,1 $\pm$ 1	-3,2	-2,5 $\pm$ 0
DOC	5,0 $\pm$ 2	-0,3 $\pm$ 4	-1,5 $\pm$ 1	1,9	0,6 $\pm$ 0	8,1	13,7 $\pm$ 4
SUVA	-5,0 $\pm$ 2	1,6 $\pm$ 2	-4,8 $\pm$ 1	-4,0	0,0 $\pm$ 1	-6,5	-17,0 $\pm$ 1
WAMW	-4,4 $\pm$ 1	1,1 $\pm$ 2	-1,8 $\pm$ 0	-3,5	0,0 $\pm$ 1	-5,6	-14,1 $\pm$ 1
E2E3	-0,2 $\pm$ 0	0,2 $\pm$ 0	1,2 $\pm$ 0	1,9	1,5 $\pm$ 1	-0,7	2,9 $\pm$ 0
E2E4	0,3 $\pm$ 0	1,6 $\pm$ 1	2,9 $\pm$ 1	1,9	8,5 $\pm$ 0	-5,2	-5,6 $\pm$ 2
E4E6	6,6 $\pm$ 2	3,9 $\pm$ 1	14,4 $\pm$ 8	-5,7	14,5 $\pm$ 6	-14,2	1,5 $\pm$ 1
Na	12,2 $\pm$ 13	14,6 $\pm$ 5	37,0 $\pm$ 3	34,4	9,0 $\pm$ 4	11,9	19,3 $\pm$ 9
K	13,6 $\pm$ 14	17,9 $\pm$ 10	24,7 $\pm$ 3	29,2	4,7 $\pm$ 3	7,1	23,5 $\pm$ 13
Rb	3,8 $\pm$ 12	10,0 $\pm$ 0	26,7 $\pm$ 5	34,4	4,9 $\pm$ 3	16,1	17,3 $\pm$ 9
Mg	1,8 $\pm$ 12	3,8 $\pm$ 2	12,8 $\pm$ 33	25,9	7,6 $\pm$ 5	9,3	11,6 $\pm$ 7
Ca	14,1 $\pm$ 13	10,4 $\pm$ 3	87,1 $\pm$ 65	29,4	28,5 $\pm$ 18	13,2	12,7 $\pm$ 6
Sr	5,2 $\pm$ 12	6,1 $\pm$ 5	103,2 $\pm$ 58	25,9	23,2 $\pm$ 12	13,9	11,5 $\pm$ 5
Ba	11,7 $\pm$ 16	16,9 $\pm$ 4	-20,2 $\pm$ 61	22,0	87,5 $\pm$ 70	12,3	1,6 $\pm$ 2
Si	-21,2 $\pm$ 11	-22,0 $\pm$ 1	6,9 $\pm$ 9	-25,1	-4,7 $\pm$ 1	-29,8	-8,7 $\pm$ 4
P	18,2 $\pm$ 10	7,5 $\pm$ 3	128,6 $\pm$ 8	-99,4	8,6 $\pm$ 4	-2,5	-99,3 $\pm$ 0
Cr	-7,0 $\pm$ 5	-14,0 $\pm$ 1	24,8 $\pm$ 4	42,2	12,2 $\pm$ 10	-10,0	-68,7 $\pm$ 6
V	0,5 $\pm$ 11	6,2 $\pm$ 4	-1,5 $\pm$ 10	31,2	5,0 $\pm$ 1	-42,9	-50,1 $\pm$ 12
Mn	-2,3 $\pm$ 12	3,3 $\pm$ 0	-6,4 $\pm$ 25	29,3	7,7 $\pm$ 5	-10,4	-79,4 $\pm$ 1
Fe	0,8 $\pm$ 8	4,0 $\pm$ 0	30,6 $\pm$ 57	23,1	5,2 $\pm$ 4	-39,0	-94,4 $\pm$ 0
Co	-3,6 $\pm$ 12	5,7 $\pm$ 2	-28,2 $\pm$ 20	31,1	9,1 $\pm$ 3	45,5	-9,5 $\pm$ 26
Ni	9,9 $\pm$ 11	10,0 $\pm$ 1	50,2 $\pm$ 23	34,6	8,8 $\pm$ 3	7,6	12,3 $\pm$ 10

<b>Mo</b>	-9,9 ± 33	35,8 ± 11	30,2 ± 5	-83,0	13,6 ± 4	-2,1	16,4 ± 8
<b>Al</b>	3,5 ± 11	5,1 ± 1	16,8 ± 29	-33,4	6,7 ± 5	-9,4	-85,1 ± 7
<b>Ga</b>	-11,5 ± 19	7,2 ± 11	626,5 ± 521	-25,0	26,3 ± 1	8,4	97,8 ± 162
<b>Y</b>	4,0 ± 1	6,9 ± 7	-54,2 ± 7	31,5	7,2 ± 2	5,8	-59,7 ± 0
<b>La</b>	71,2 ± 27	-2,0 ± 8	-40,9 ± 20	26,4	132,8 ± 115	-3,9	-81,5 ± 3
<b>Ce</b>	24,1 ± 8	3,3 ± 0	-52,4 ± 20	27,0	4,0 ± 2	-17,8	-82,8 ± 0
<b>Pr</b>	20,0 ± 19	20,0 ± 8	-47,6 ± 18	23,8	1,9 ± 17	-5,4	-82,1 ± 2
<b>Nd</b>	18,8 ± 28	-4,4 ± 31	-47,8 ± 11	36,0	8,9 ± 7	-14,3	-79,2 ± 1
<b>Dy</b>	17,4 ± 4	42,8 ± 59	-61,9 ± 29	25,4	-4,2 ± 13	1,9	-69,7 ± 6
<b>Yb</b>	102,5 ± 24	75,6 ± 68	317,3 ± 349	9,2	33,7 ± 76	1,9	-62,5 ± 10
<b>Ti</b>	28,5 ± 31	-5,2 ± 1	-0,5 ± 25	1,5	8,4 ± 12	-30,1	-39,2 ± 3
<b>Zr</b>	30,3 ± 10	20,9 ± 6	53,7 ± 26	49,5	20,9 ± 3	25,5	-39,5 ± 1
<b>Hf</b>	22,5 ± 22	81,2 ± 46	294,2 ± 252	39,1	30,1 ± 6	38,0	-36,9 ± 1
<b>Th</b>	93,9 ± 40	30,3 ± 54	20,7 ± 32	52,9	18,4 ± 15	95,1	5,6 ± 77
<b>As</b>	4,0 ± 12	10,7 ± 2	47,0 ± 4	39,4	4,9 ± 4	18,2	-34,9 ± 0
<b>Pb</b>	359,4 ± 296	528,5 ± 431	5,1 ± 55	32,2	-52,9 ± 39	-6,0	-85,7 ± 7

**Tableau 4 - S 4** : Coefficients (slope, R<sup>2</sup> and p\_value) of the significant linear regression ( *p\_value* <0.05) between elemental ratios (*i.e* **Y** = (C<sub>org</sub>/Al)<sub>molar</sub>, (C<sub>org</sub>/Fe)<sub>molar</sub>, DOC) and the number of freezing cycle (**X** = freezing cycles).

linear regression (Y ~ X = cycle)		OM origins		
Y	parameters	lichen	thermokarst lake	Pechora River
Corg/Al	slope			2696.8
	R <sup>2</sup>			0.5092
	<i>p_value</i>			0.00916
Corg/Fe	slope		59.31	384.60
	R <sup>2</sup>		0.725	0.8459
	<i>p_value</i>		0.003585	2.297E-05
DOC	slope	-0.12259	0.05382	
	R <sup>2</sup>	0.5143	0.2713	
	<i>p_value</i>	0.0005485	0.03204	



**Tableau 4 - S 5** : Uncorrected and Fe-corrected SUVA<sub>254</sub> (using Poulin et al., 2014) values and their comparisons. Variations of values between uncorrected and corrected data < 5% are highlighted in green; variations of 5 to 10% are highlighted in yellow; and variations > 10% are given in red (no data for such values).

FTC number	Origin of OM	DOC, mg.L <sup>-1</sup>	Absorbance at 254 nm, cm <sup>-1</sup>	Fe, mg.L <sup>-1</sup>	uncorrected SUVA <sub>254</sub> , L.mgC <sup>-1</sup> .m <sup>-1</sup>	Absorbance of Fe at 254 nm, cm <sup>-1</sup>	Corrected SUVA <sub>254</sub> , L.mgC <sup>-1</sup> .m <sup>-1</sup>	% variation between corrected and uncorrected SUVA <sub>254</sub> , L.mgC <sup>-1</sup> .m <sup>-1</sup>
0	thermokarst lake	9.52	0.42	0.07	4.42	6.68E-03	4.35	1.59
0	thermokarst lake	9.35	0.42	0.06	4.49	6.06E-03	4.43	1.44
3	thermokarst lake	9.58	0.43	0.05	4.45	5.07E-03	4.40	1.19
3	thermokarst lake	9.52	0.44	0.04	4.66	4.78E-03	4.61	1.08
5	thermokarst lake	10.15	0.41	0.04	4.08	4.84E-03	4.04	1.17
5	thermokarst lake	9.89	0.41	0.04	4.17	4.51E-03	4.13	1.09
7	thermokarst lake	9.45	0.42	0.03	4.45	4.27E-03	4.40	1.02
7	thermokarst lake	9.58	0.42	0.04	4.37	4.60E-03	4.33	1.10
9	thermokarst lake	10.28	0.43	0.04	4.13	4.85E-03	4.09	1.14
0	Pechora river	7.66	0.30	0.17	3.95	1.33E-02	3.78	4.40
0	Pechora river	7.52	0.30	0.19	4.05	1.42E-02	3.86	4.66
1	Pechora river	8.89	0.33	0.05	3.67	5.36E-03	3.61	1.65
1	Pechora river	9.12	0.32	0.09	3.47	7.92E-03	3.38	2.51
3	Pechora river	7.89	0.30	0.05	3.75	5.00E-03	3.69	1.69
3	Pechora river	7.68	0.29	0.04	3.72	4.49E-03	3.66	1.57
5	Pechora river	8.45	0.28	0.01	3.32	2.93E-03	3.29	1.04
5	Pechora river	8.05	0.28	0.03	3.46	4.23E-03	3.41	1.52
7	Pechora river	8.12	0.28	0.01	3.46	2.95E-03	3.42	1.05
7	Pechora river	7.74	0.28	0.02	3.58	3.28E-03	3.54	1.18
9	Pechora river	9.00	0.29	0.01	3.23	2.64E-03	3.20	0.91
9	Pechora river	8.27	0.28	0.01	3.41	2.67E-03	3.38	0.95
0	depression	105.97	1.66	1.35	1.56	9.02E-02	1.48	5.44
0	depression	107.14	1.64	1.31	1.53	8.72E-02	1.45	5.31
1	depression	107.22	1.65	1.25	1.54	8.35E-02	1.46	5.05
3	depression	107.00	1.65	1.28	1.54	8.57E-02	1.46	5.20
5	depression	107.04	1.63	1.20	1.53	8.04E-02	1.45	4.93
5	depression	105.80	1.69	1.24	1.60	8.26E-02	1.52	4.88
7	depression	106.00	1.66	1.41	1.57	9.41E-02	1.48	5.66
7	depression	106.30	1.68	1.45	1.58	9.66E-02	1.49	5.75

9	depression	106.97	1.65	1.47	1.54	9.79E-02	1.45	5.93
9	depression	107.33	1.67	1.33	1.55	8.86E-02	1.47	5.32
0	lichen	52.33	0.36	0.01	0.69	2.34E-03	0.68	0.65
0	lichen	52.77	0.36	0.00	0.68	2.28E-03	0.67	0.64
1	lichen	52.70	0.36	0.00	0.69	2.20E-03	0.68	0.61
1	lichen	52.58	0.36	0.00	0.68	2.25E-03	0.68	0.63
3	lichen	51.54	0.36	0.00	0.69	2.24E-03	0.69	0.63
3	lichen	51.91	0.36	0.01	0.69	2.47E-03	0.69	0.69
5	lichen	51.37	0.35	0.00	0.68	2.27E-03	0.68	0.65
5	lichen	51.55	0.35	0.00	0.68	2.26E-03	0.67	0.65
7	lichen	51.85	0.34	0.00	0.66	2.30E-03	0.66	0.67
7	lichen	51.67	0.34	0.01	0.67	2.39E-03	0.66	0.69
9	lichen	51.89	0.34	0.00	0.65	2.25E-03	0.64	0.67
9	lichen	51.67	0.34	0.01	0.65	2.53E-03	0.65	0.75
0	sphagnum	22.41	1.17	0.47	5.24	3.26E-02	5.09	2.78
0	sphagnum	22.74	1.16	0.48	5.08	3.35E-02	4.93	2.90
1	sphagnum	23.88	1.20	0.43	5.03	2.99E-02	4.90	2.49
1	sphagnum	24.00	1.20	0.54	4.99	3.72E-02	4.84	3.11
3	sphagnum	22.95	1.17	0.53	5.08	3.66E-02	4.92	3.13
3	sphagnum	22.65	1.13	0.51	4.97	3.54E-02	4.81	3.14
5	sphagnum	22.79	1.16	0.51	5.09	3.53E-02	4.94	3.04
5	sphagnum	23.38	1.15	0.32	4.90	2.27E-02	4.80	1.98
7	sphagnum	23.69	1.16	0.48	4.89	3.35E-02	4.75	2.89
7	sphagnum	23.27	1.16	0.54	4.97	3.70E-02	4.81	3.20
9	sphagnum	22.83	1.15	0.58	5.03	3.97E-02	4.85	3.46
0	active layer	22.36	1.18	0.09	5.29	7.65E-03	5.26	0.65
0	active layer	22.54	1.18	0.08	5.24	6.97E-03	5.21	0.59
1	active layer	23.82	1.19	0.08	5.01	7.06E-03	4.98	0.59
1	active layer	23.62	1.19	0.07	5.02	6.35E-03	4.99	0.54
3	active layer	22.23	1.18	0.08	5.31	7.05E-03	5.28	0.60
5	active layer	22.53	1.17	0.08	5.21	7.49E-03	5.18	0.64
5	active layer	23.31	1.17	0.07	5.02	6.39E-03	5.00	0.55
7	active layer	22.26	1.16	0.09	5.23	7.60E-03	5.19	0.65
7	active layer	22.71	1.17	0.08	5.16	7.17E-03	5.12	0.61
9	active layer	23.87	1.18	0.08	4.95	7.24E-03	4.92	0.61
9	active layer	23.28	1.18	0.08	5.06	7.40E-03	5.03	0.63
0	permafrost	22.41	1.17	0.12	5.21	1.01E-02	5.16	0.86
0	permafrost	23.01	1.19	0.12	5.16	1.00E-02	5.11	0.84
1	permafrost	22.09	1.22	0.09	5.52	8.03E-03	5.48	0.66
3	permafrost	22.84	1.20	0.11	5.25	9.19E-03	5.21	0.77
3	permafrost	23.28	1.20	0.10	5.14	8.63E-03	5.10	0.72
5	permafrost	22.84	1.19	0.10	5.23	8.61E-03	5.19	0.72
7	permafrost	22.57	1.19	0.12	5.29	9.58E-03	5.24	0.80
7	permafrost	22.92	1.18	0.11	5.17	9.00E-03	5.13	0.76
9	permafrost	23.14	1.20	0.13	5.17	1.04E-02	5.12	0.87
9	permafrost	22.11	1.19	0.13	5.36	1.03E-02	5.32	0.87

**Tableau 4 - S 6 :** Summary of significant linear regression correlation between Fe and DOC with TE (trace elements) and between the molar ratio of  $C_{org}/TE$  with FTC. Significant correlation (*i.e.*  $p\_value < 0.05$ ) are indicated by “X”.

		Fe~TE						DOC~TE							
		active layer	permafrost	lichen	moss	depression	thermokarst lake	Pechora River	active layer	permafrost	lichen	moss	depression	thermokarst lake	Pechora River
Alkali metals	Na			X	X	X									
	K		X			X									
	Rb	X	X			X									
Alkaline earth metals	Mg		X			X									
	Ca		X			X									
	Ba								X						
	Sr		X												
Macro- and Micro-nutrients	Si										X				
	P				X	X		X							
	Cr		X	X	X	X			X						
	V	X	X			X	X	X							
	Mn		X			X	X	X							
	Fe	/	/	/	/	/	/	/							
	Co		X			X									
	Ni	X	X			X									
	Mo		X			X									
Trivalent hydrolysates	Al	X	X	X		X	X	X							
	Ga	X	X			X			X						
	Y							X							
	La		X			X		X							
	Ce	X	X			X		X							
	Pr	X	X					X							
	Nd					X		X							
	Dy							X							
	Yb	X						X							
Tetravalent hydrolysates	Ti	X	X	X		X	X	X							X
	Zr	X	X			X									
	Hf					X									
	Th					X							X		
Toxicants	As	X	X	X	X	X		X							
	Pb														

## Chapitre 5

**Tableau 5 - S 1:** The 31 substrates composing the Biolog EcoPlates, from <https://www.biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates/>

<b>A1</b> Water	<b>A2</b> $\beta$ -Methyl-D-Glucoside	<b>A3</b> D-Galactonic Acid $\gamma$ -Lactone	<b>A4</b> L-Arginine
<b>B1</b> Pyruvic Acid Methyl Ester	<b>B2</b> D-Xylose	<b>B3</b> D-Galacturonic Acid	<b>B4</b> L-Asparagine
<b>C1</b> Tween 40	<b>C2</b> i-Erythritol	<b>C3</b> 2-Hydroxy Benzoic Acid	<b>C4</b> L-Phenylalanine
<b>D1</b> Tween 80	<b>D2</b> D-Mannitol	<b>D3</b> 4-Hydroxy Benzoic Acid	<b>D4</b> L-Serine
<b>E1</b> $\alpha$ -Cyclodextrin	<b>E2</b> N-Acetyl-D-Glucosamine	<b>E3</b> $\gamma$ -Amino Butyric Acid	<b>E4</b> L-Threonine
<b>F1</b> Glycogen	<b>F2</b> D-Glucosaminic Acid	<b>F3</b> Itaconic Acid	<b>F4</b> Glycyl-L-Glutamic Acid
<b>G1</b> D-Cellobiose	<b>G2</b> Glucose-1-Phosphate	<b>G3</b> $\alpha$ -Keto Butyric Acid	<b>G4</b> Phenylethyl-amine
<b>H1</b> $\alpha$ -D-Lactose	<b>H2</b> D,L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	<b>H3</b> D-Malic Acid	<b>H4</b> Putrescine

**Tableau 5 - S2 :** The  $p_{values}$  of the different analysed parameters, for solid frozen peat (SFP) and frozen peat leachate (FPL), between temperatures of incubation and between added heterotrophic bacteria and control experiments. \*  $p_{values} < 0.05$ .

<b>Between 2 temperatures</b>						
pvalue	4 and 25 °C	4 and 45 °C	25 and 45 °C	4 and 25 °C	4 and 45 °C	25 and 45 °C
DOC	0.199	0.0000803*	0.00000324*	0.228	0.0447*	0.215
BDOC				0.0631	0.0401*	0.00146*
apparent RDOC	0.302	0.0206*	0.01*	0.497	0.497	0.122
SUVA <sub>254</sub>	0.0444*	0.246	0.191	0.596	0.782	0.747
CFU	0.973	0.138	0.309	0.442	0.413	0.837

<b>Between added heterotrophic bacteria and control experiment</b>						
pvalue	4 °C	25 °C	45 °C	4 °C	25 °C	45 °C
DOC	0.601	0.339	0.63	0.935	0.699	0.00781*
BDOC				0.00566*	0.0511	0.00437*
apparent RDOC	0.449	0.383	0.958	0.216	0.935	0.00687*
SUVA <sub>254</sub>	0.807	0.906	0.199	0.245	0.712	0.196
CFU	0.00726*	0.114	0.239	0.227	0.0147*	0.297

pvalue	SFP	Between 0 and 29 days of incubation		Between added heterotrophic bacteria and control experiment	
		at day 0	at day 29	at day 0	at day 29
H index		0.00459*	0.00000698*	0.00000698*	0.566
E index		0.0218*	0.0000161*	0.0000161*	0.771
AWCD		0.00328*	0.00000773*	0.00000773*	0.632

**Tableau 5 - S3 :**  $E_a$  values ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ) for the apparent release of DOC ( $R_{\text{DOC}}$ ) for solid frozen peat (SFP) and apparent removal rate of DOC ( $R_{\text{DOC}}$ ) for frozen peat leachate (FPL) incubations during the first two days of incubation. Empty cases couldn't have been calculated due to the positive values of  $R_{\text{DOC}}$  at 45 °C and negative values at 4 and 25 °C.

		Ea(4-25 °C), $\text{kJ mol}^{-1}$	Ea(4-45 °C), $\text{kJ mol}^{-1}$	Ea(25-45 °C), $\text{kJ mol}^{-1}$
SFP incubations	Control	-23.98 ±0.5	19.80 ±3.0	72.56 ±6.1
	Added heterotrophic bacteria	15.17 ±3.9	31.22 ±6.1	50.56 ±18.1
FPL incubations	Control			-29.42
	Added heterotrophic bacteria	-4.23 ±12.3		

**Tableau 5 - S 4 :** Tableau récapitulant les moyennes et les écart-types des productions de CO<sub>2</sub> (en nmol.g<sup>-1</sup>sol.jour<sup>-1</sup>) et de CH<sub>4</sub> pour les différents mélanges incubés (P1, P2, P3, P4, P5 et P6) sur toute la durée d'incubation.

Mélange	Profondeur	Temps d'incubation (jours)	Moyenne de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Moyenne de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )
P1	0-20 cm	4	-0,10	0,1	1495,96	69,9
		6	0,07	0,0	619,39	36,6
		11	-0,05	0,0	36,25	22,3
		13	-0,01	0,1	70,33	18,4
		18	0,04	0,0	1928,03	247,1
		20	-0,04	0,0	454,13	46,1
		90	0,02	0,1	652,09	124,8
		95	0,04	0,1	556,74	60,1
		97	0,03	0,0	1554,37	296,9
		104	0,05	0,1	97,71	49,8
		123	0,20	0,0	-2497,51	5192,5
		125	0,00	0,0	1017,50	87,4
		139	-0,11	0,2	1624,17	186,6
		151	-0,06	0,1	610,07	265,8
		153	0,11	0,0	1623,36	270,7
		186	-0,09	0,3	3468,29	5200,9
188	0,73	0,7	100,14	67,3		
P2	20-40 cm	4	-0,01	0,0	81,34	304,8
		6	0,10	0,1	-153,79	95,6
		11	0,04	0,0	-181,61	281,3
		13	-0,04	0,0	314,87	109,1
		18	-0,01	0,1	218,68	44,5
		20	0,00	0,1	671,63	144,0
		90	0,04	0,1	340,85	26,8
		95	0,04	0,1	-350,55	132,5
		97	-0,04	0,1	-235,69	140,3
		104	-0,01	0,1	-342,30	331,5
		123	-0,09	0,0	84,56	332,0
		125	0,01	0,0	-41,97	115,1
		139	-0,16	0,0	128,70	112,8
		151	-0,03	0,2	190,60	1,7
		153	-0,07	0,1	-419,22	197,0
		186	0,02	0,2	99,23	149,4
188	-0,02	0,2	247,89	129,2		

Mélange	Profondeur	Temps d'incubation (jours)	Moyenne de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Moyenne de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> sol.jour <sup>-1</sup> )
P3	40-50 cm	4	-0,11	0,0	-651,97	153,3
		6	0,13	0,0	275,88	64,7
		11	0,00	0,0	-753,64	190,7
		13	0,04	0,0	-834,53	54,4
		18	0,03	0,1	-947,86	304,3
		20	0,21	0,0	-1223,43	138,9
		90	0,04	0,1	1015,96	293,6
		95	0,02	0,0	247,31	42,3
		97	0,01	0,1	105,70	19,1
		104	-0,04	0,1	1070,09	163,5
		123	0,29	0,1	961,53	36,1
		125	-0,19	0,1	878,21	112,0
		139	-0,11	0,1	724,97	110,4
		151	-0,12	0,2	835,14	50,2
		153	-0,05	0,0	301,07	281,1
		186	-0,03	0,2	718,51	40,0
188	-0,14	0,1	421,80	53,3		
P4	60-80 cm	4	-0,06	0,0	1176,80	32,8
		6	0,18	0,0	774,04	130,8
		11	-0,02	0,0	542,88	38,9
		13	0,07	0,1	702,15	124,7
		18	-0,03	0,1	-464,44	8,8
		20	0,34	0,1	-238,63	102,1
		90	0,14	0,1	-149,20	109,1
		95	0,07	0,0	140,22	79,1
		97	-0,06	0,0	-464,41	360,4
		104	0,04	0,1	-239,72	86,3
		123	-0,12	0,0	-256,15	57,3
		125	0,04	0,0	-409,13	175,1
		139	0,16	0,1	11,40	115,8
		151	0,02	0,2	220,40	173,8
		153	-0,04	0,1	885,64	1039,6
		186	0,17	0,2	692,91	849,6
188	0,03	0,1	684,30	153,6		

Mélange	Profondeur	Temps d'incubation (jours)	Moyenne de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> .sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CH <sub>4</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> .sol.jour <sup>-1</sup> )	Moyenne de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> .sol.jour <sup>-1</sup> )	Ecart-types de production de CO <sub>2</sub> (nmol.g <sup>-1</sup> .sol.jour <sup>-1</sup> )
P5	90-110 cm	4	-0,05	0,0	398,83	156,2
		6	0,22	0,0	611,23	21,7
		11	0,99	1,5	154,17	10,2
		13	-0,98	1,5	-57,55	177,7
		18	0,03	0,1	473,53	16,6
		20	-0,03	0,0	501,39	167,5
		90	0,06	0,1	729,71	81,4
		95	-0,01	0,0	431,45	88,9
		97	0,11	0,1	638,76	167,8
		104	-0,01	0,1	742,87	52,5
		123	-0,06	0,1	799,14	94,2
		125	-0,07	0,0	331,14	178,5
		139	0,13	0,1	83,99	91,6
		151	0,27	0,1	42,63	119,3
		153	-0,13	0,0	676,80	113,1
		186	0,15	0,0	-196,33	108,6
188	0,17	0,0	-273,38	110,4		
P6	120-140 cm	4	-0,01	0,1	165,40	405,3
		6	0,38	0,0	-84,95	44,8
		11	-0,12	0,0	132,28	9,6
		13	0,16	0,0	112,10	27,3
		18	0,26	0,3	-20,84	201,3
		20	-0,20	0,2	137,60	5,0
		90	0,00	0,1	94,88	16,1
		95	0,13	0,0	172,60	31,7
		97	-0,08	0,0	493,54	456,4
		104	-0,04	0,0	239,05	42,9
		123	-0,06	0,1	-3,94	9,2
		125	-0,15	0,0	33,33	35,9
		139	0,10	0,1	120,37	13,0
		151	0,02	0,1	162,54	21,5
		153	-0,10	0,1	160,99	66,7
		186	0,12	0,1	2,77	45,5
188	-0,08	0,2	143,71	26,4		



# Figures

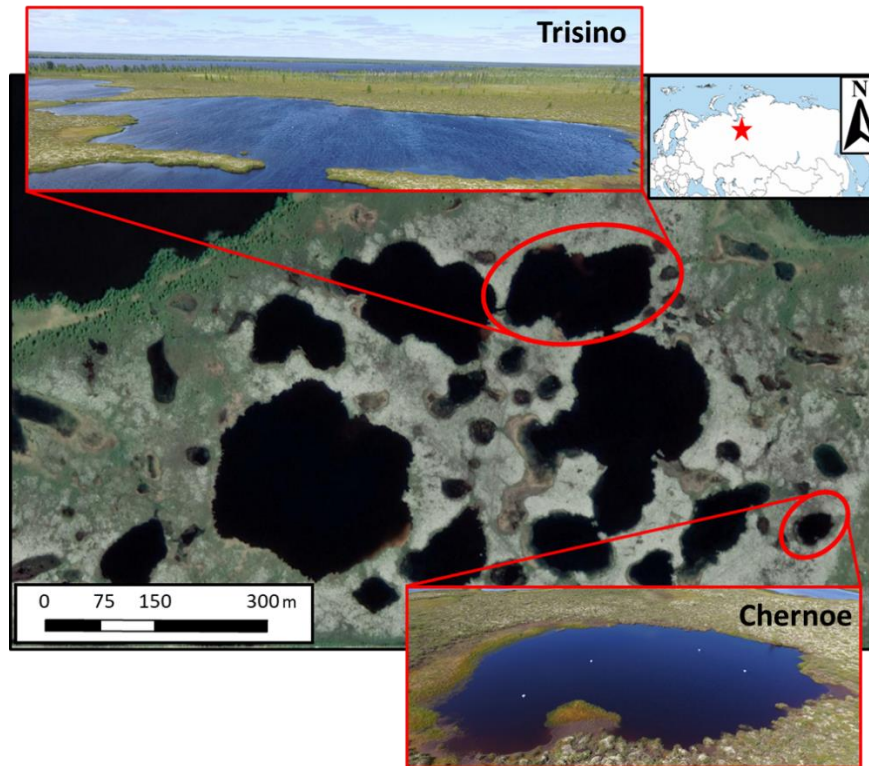
## Chapitre 1

**Figure 1 - S 1:** Composition des puits de l'Ecoplate (Biolog®), source : <https://www.biolog.com/products-portfolio-overview/microbial-community-analysis-with-ecoplates/>

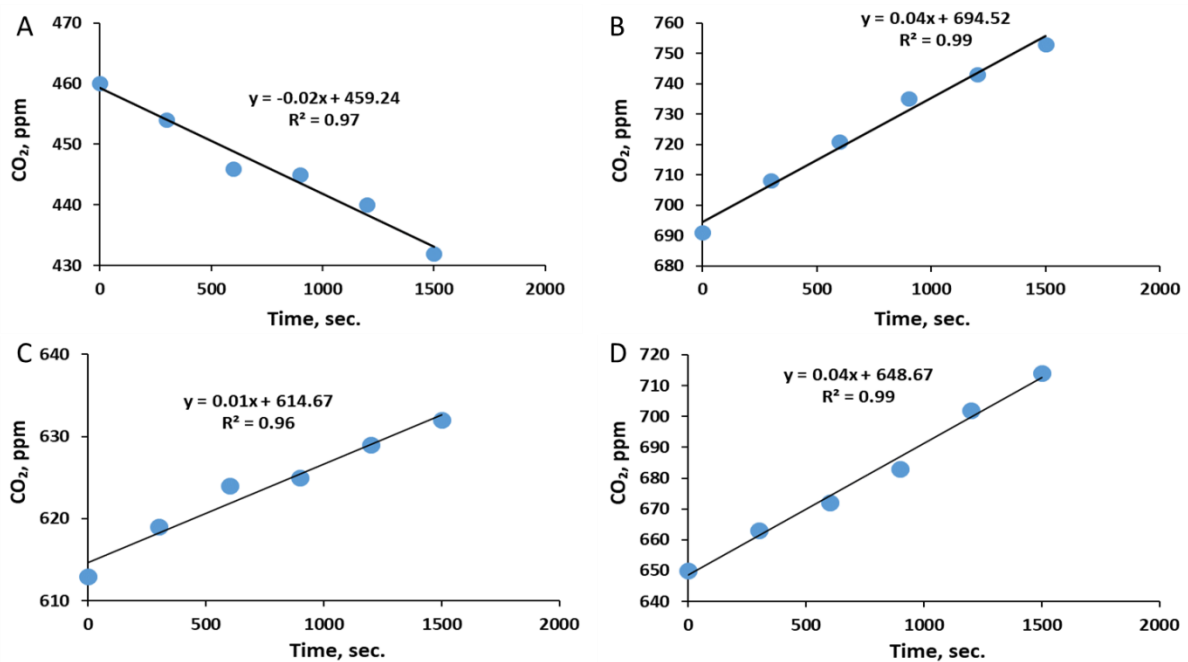
Biolog EcoPlate	1	2	3	4
A	Water	$\beta$ -methyl-D-glucoside	D-Galactonic Acid $\gamma$ -Lactone	L-Arginine
B	Pyruvic Acid Methyl Esther	D-xylose	D-Galacturonic Acid	L-Asparagine
C	Tween 40	i-Erythritol	2-Hydroxy Benzoic Acid	L-Phenylamine
D	Tween 80	D-Mannitol	4-Hydroxy Benzoic Acid	L-Serine
E	$\alpha$ -Cyclodextrin	N-Acetyl-D-Glucosamine	$\gamma$ -Hydroxy Butyric Acid	L-Threonine
F	Glycogen	D-Glucosamic Acid	Itaconic Acid	Glycyl-L-Glutamic Acid
G	D-Cellobiose	Glucose-1-Phosphate	$\alpha$ -Keto Butyric Acid	Phenylethyl-amine
H	$\alpha$ -D-Lactose	D,L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate	D-Malic Acid	Putrescine

	Amines		Carboxylic acids
	Carbohydrates		Amino acids
	Complex carbon sources		Phosphate-carbon

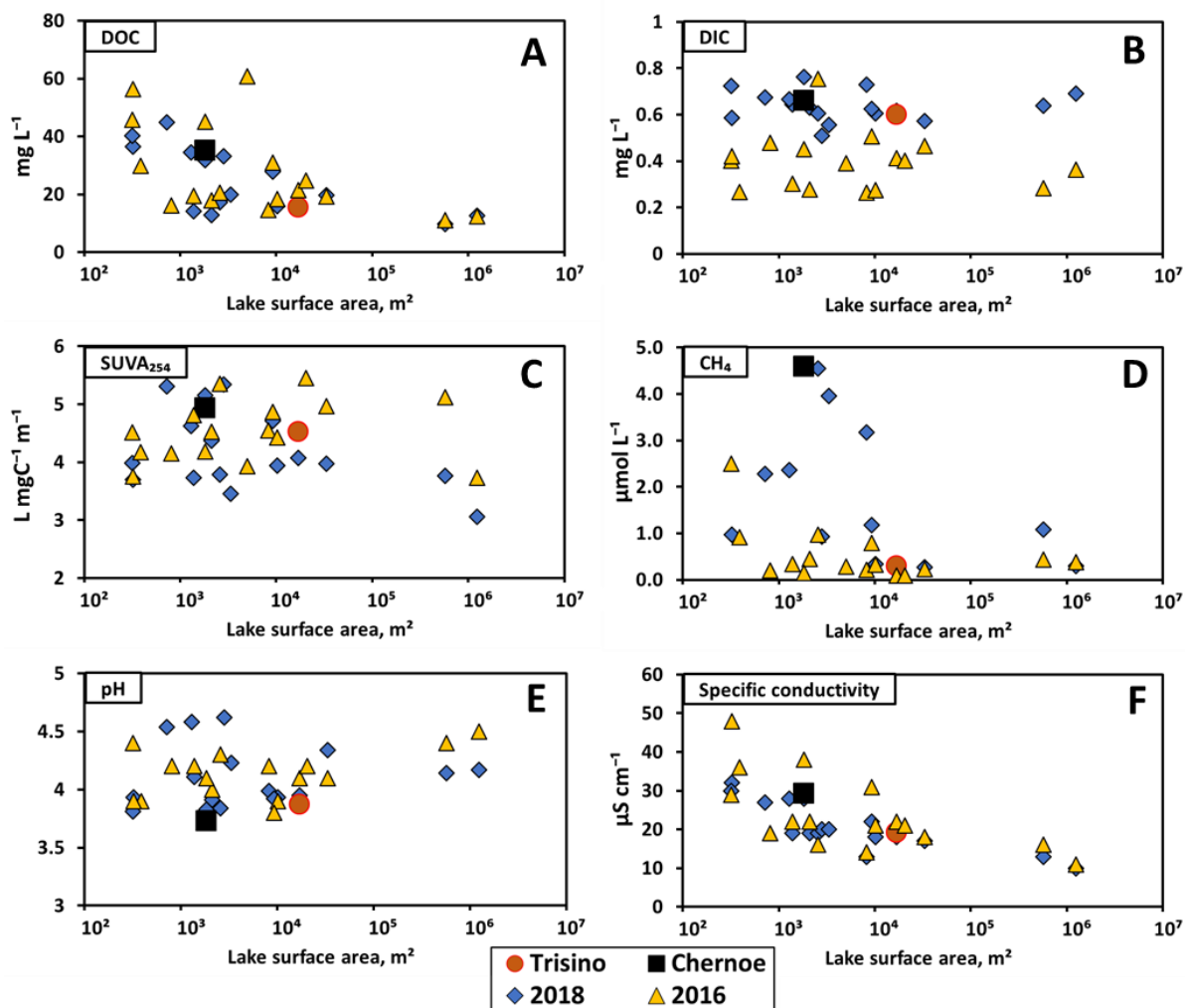
## Chapitre 2



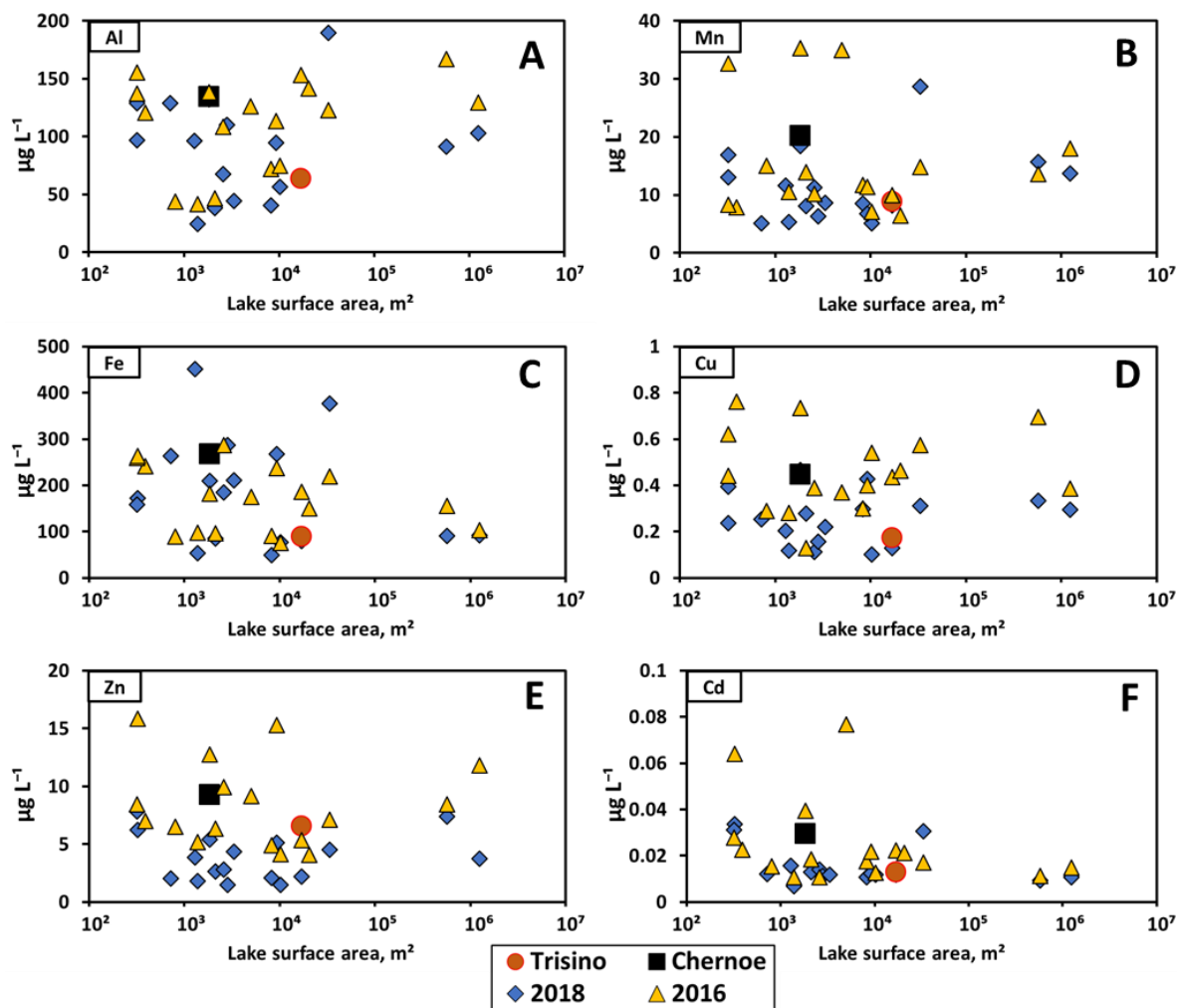
**Figure 2 - S1** : Schematic map of the region, where the asterisk on the global map represents the location of the studied site and localization of Trisino and Chernoe Lake is shown on the Google Earth® image. The four white dots on the Chernoe Lake represents 4 chambers used to measure CO<sub>2</sub> flux.



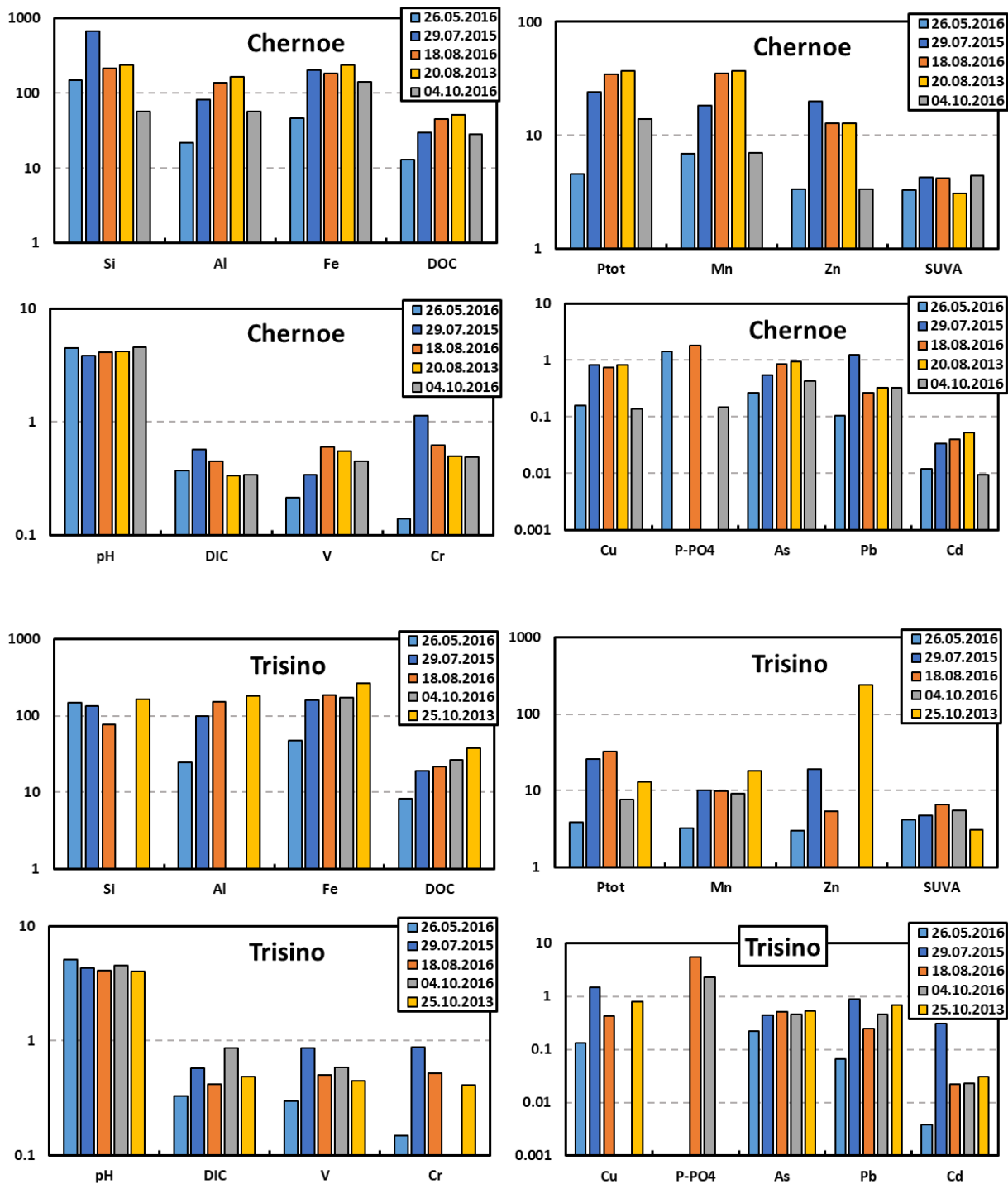
**Figure 2 - S2** : Examples of temporal evolution of CO<sub>2</sub> concentrations in the floating chamber: Trisino, during the day (A) and night (B); Chernoe, during the day (C), and night (D). Note that high coefficients of regression (0.96 to 0.99,  $p < 0.0001$ ), allows to use a linear model for calculating the flux.



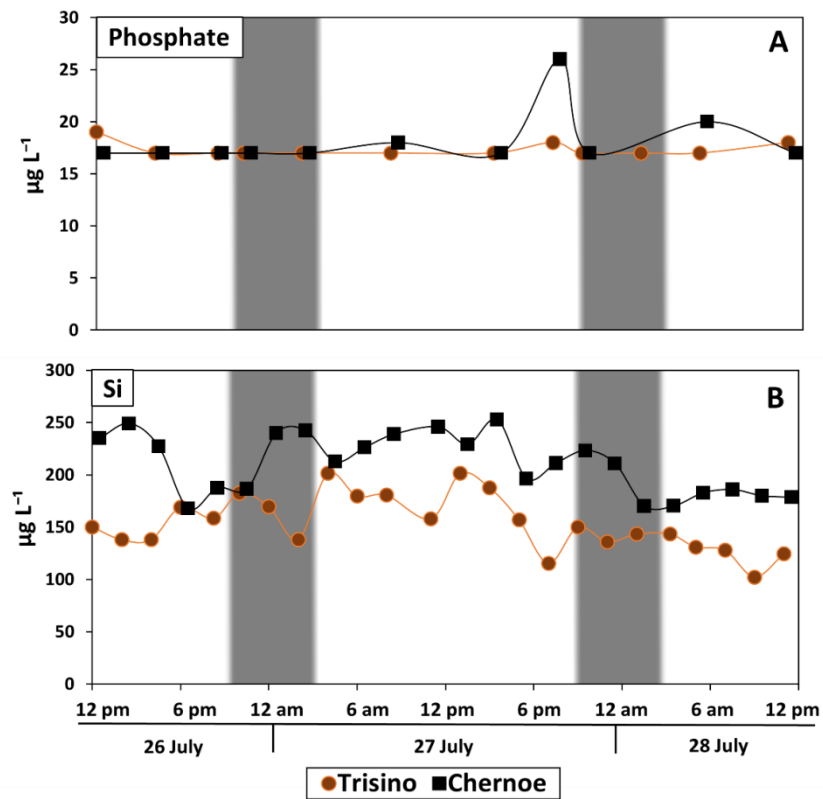
**Figure 2 - S3 :** Concentration of DOC (A), DIC (B),  $SUVA_{254}$  (C), dissolved  $CH_4$  (D), pH (E) and specific conductivity (F) as a function of lake area in thermokarst lakes of Khanymey station. Two lakes studied in this work (Trisino and Chernoe, see Fig. S1) are shown as orange circle and black square, respectively. Blue diamonds and yellow triangles represent sampling in other lakes of this region performed during summer of the year 2018 and 2016, respectively. Here and in Figs. S4 and S5, the measurements represent the average of 2 to 3 samplings during the day.



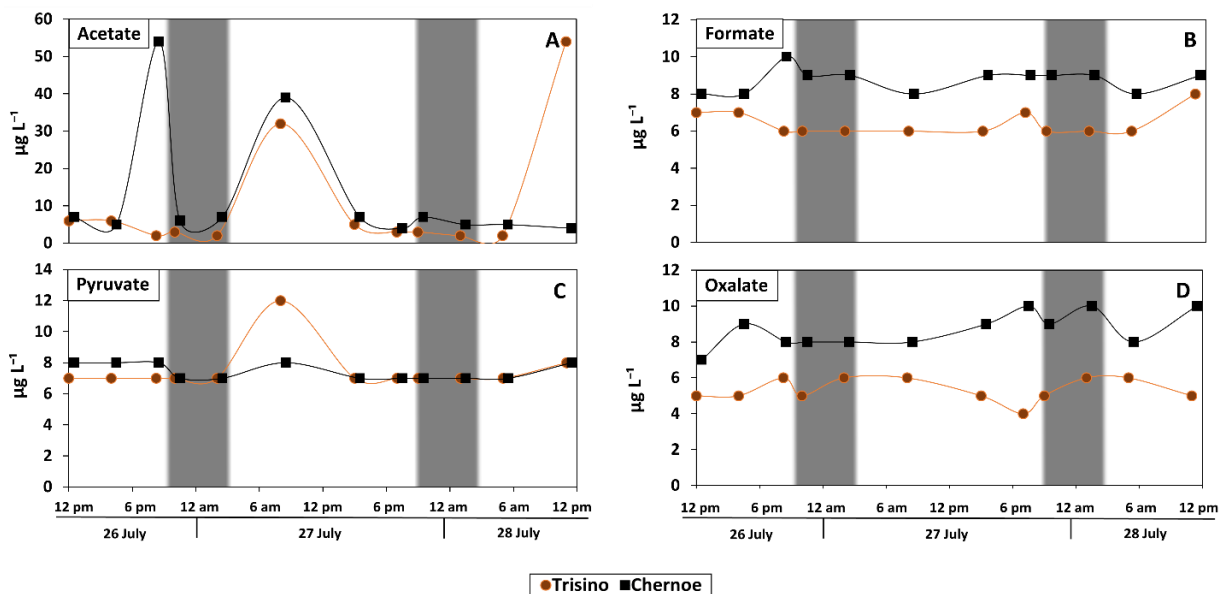
**Figure 2 - S4** : Concentration of Al (A), Mn (B), Fe (C), Cu (D), Zn (E) and Cd (F) as a function of lake area in thermokarst lakes of the Khanymey station. Two lakes studied in this work (Trisino and Chernoe, see Fig. S1) are shown as orange circle and black square, respectively. For the symbols, same legend as Fig S3.



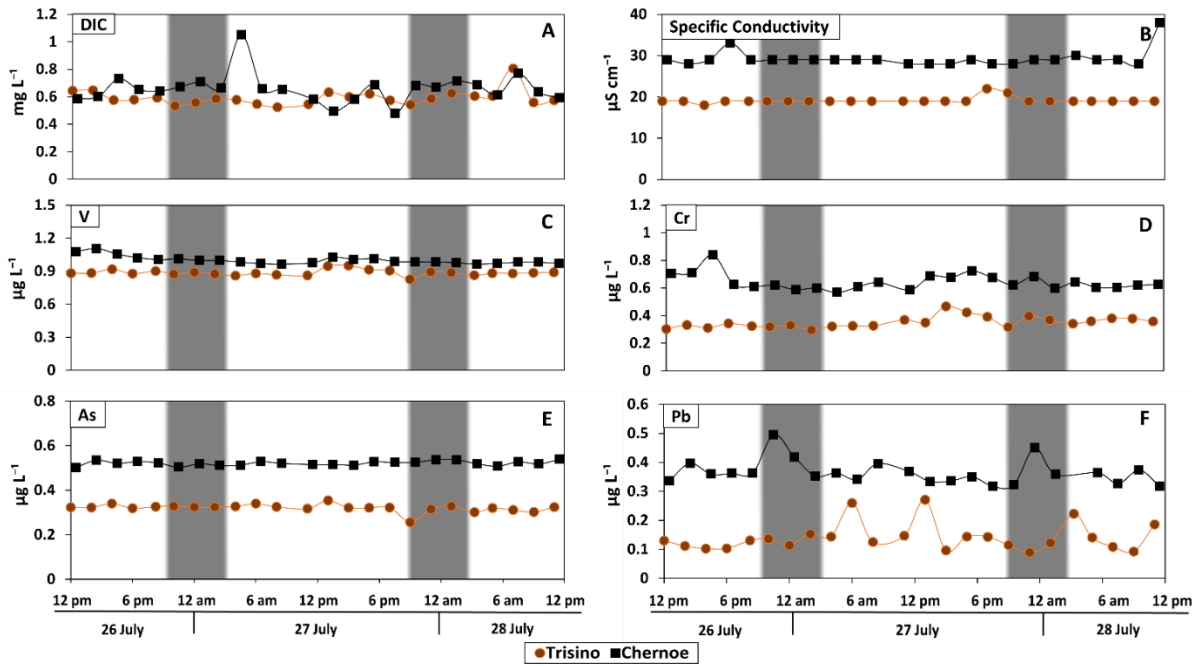
**Figure 2 - S5** : Seasonal evolution of chemical composition of two studied lakes. The summer period, lasting from beginning of July till middle of September is most representative time for lake water sampling and element pool estimation (i.e., Polishchuk et al., 2018)



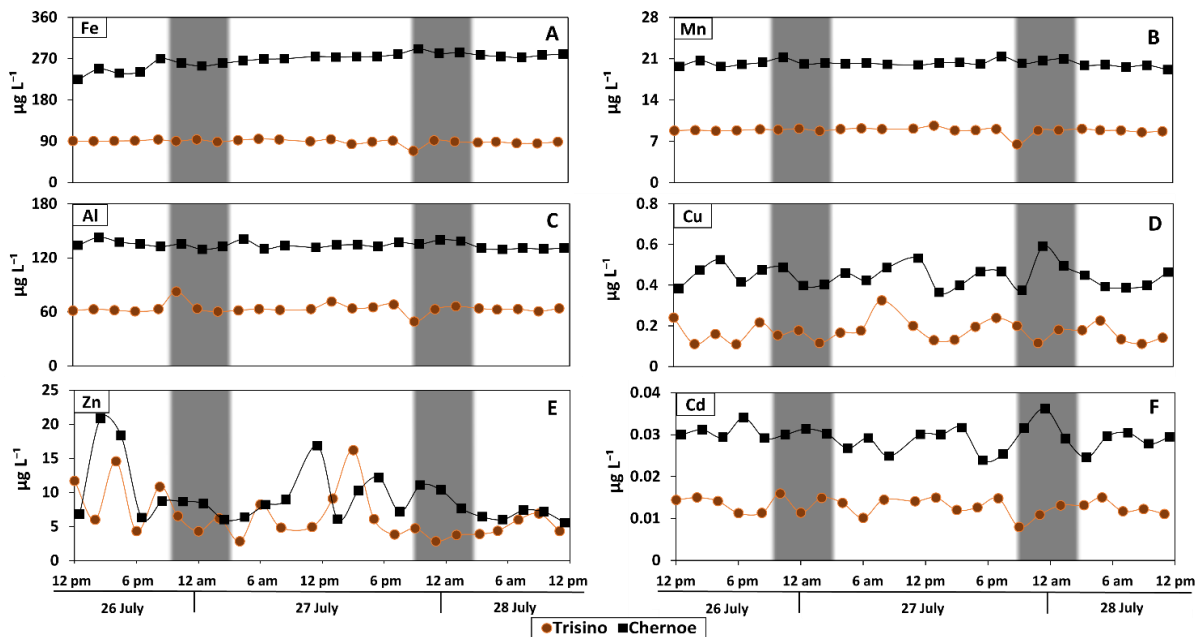
**Figure 2 - S6 :** Diurnal pattern of P-PO<sub>4</sub> (A) and Si (B) concentration measured in the two thermokarst lakes of Western Siberia. The shadowed area represents night-time observations (same for Figs. S7-S9).



**Figure 2 - S7 :** Diurnal pattern of carboxylate concentration: acetate (A), formate (B), pyruvate (C) and oxalate (D) in the two thermokarst lakes of Western Siberia.

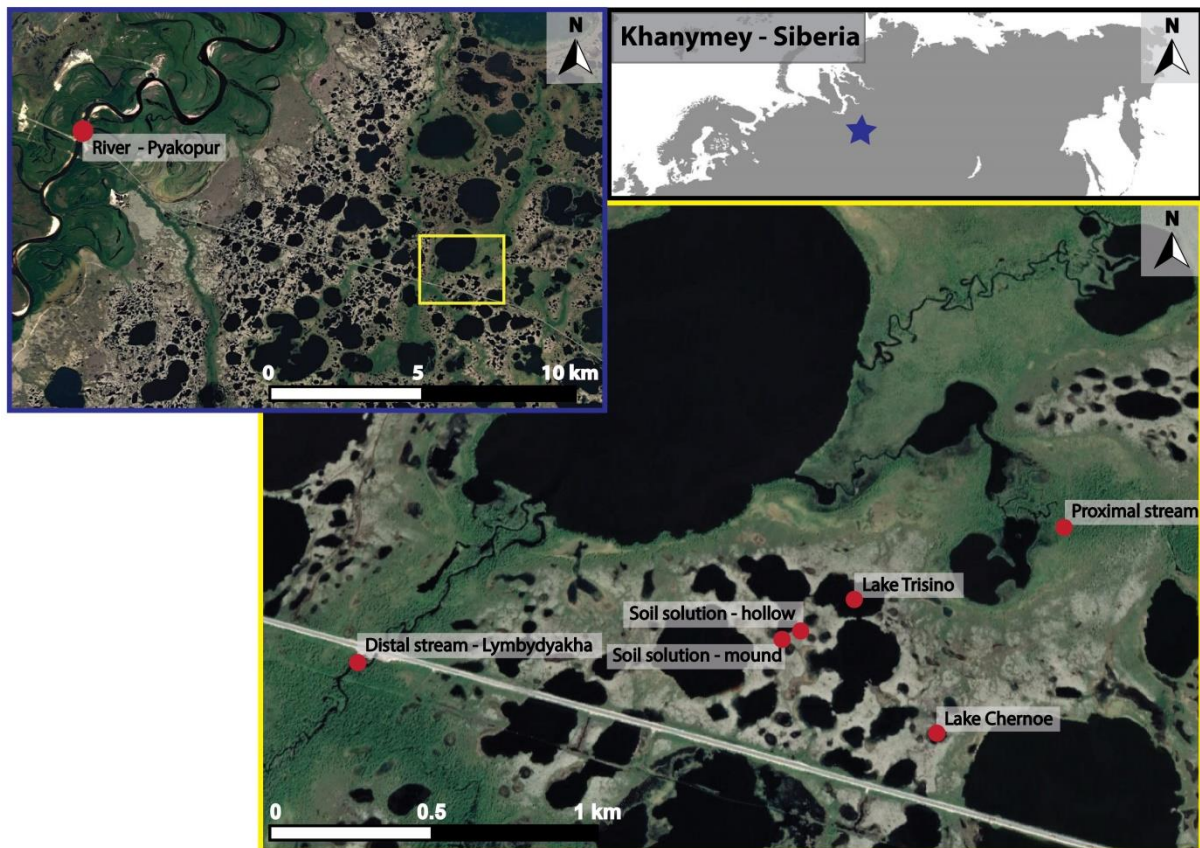


**Figure 2 - S8** : Diurnal pattern of DIC (A), Specific Conductivity (B), V (C), Cr (D), As (E), and Pb (F) concentration measured in the two thermokarst lakes of Western Siberia.



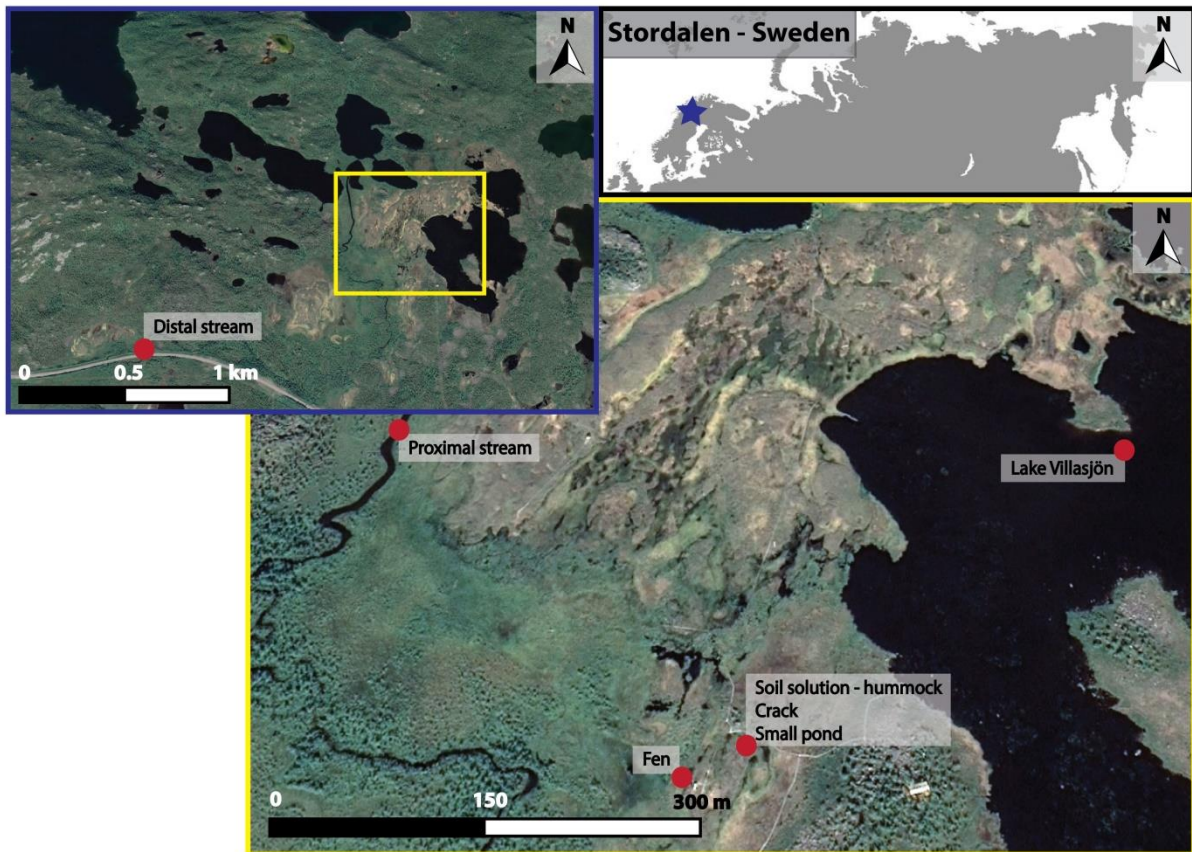
**Figure 2 - S9** : Diurnal pattern of Fe (A), Mn (B), Al (C), Cu (D), Zn (E) and Cd (F) concentration measured in the two thermokarst lakes of Western Siberia.

### Chapitre 3

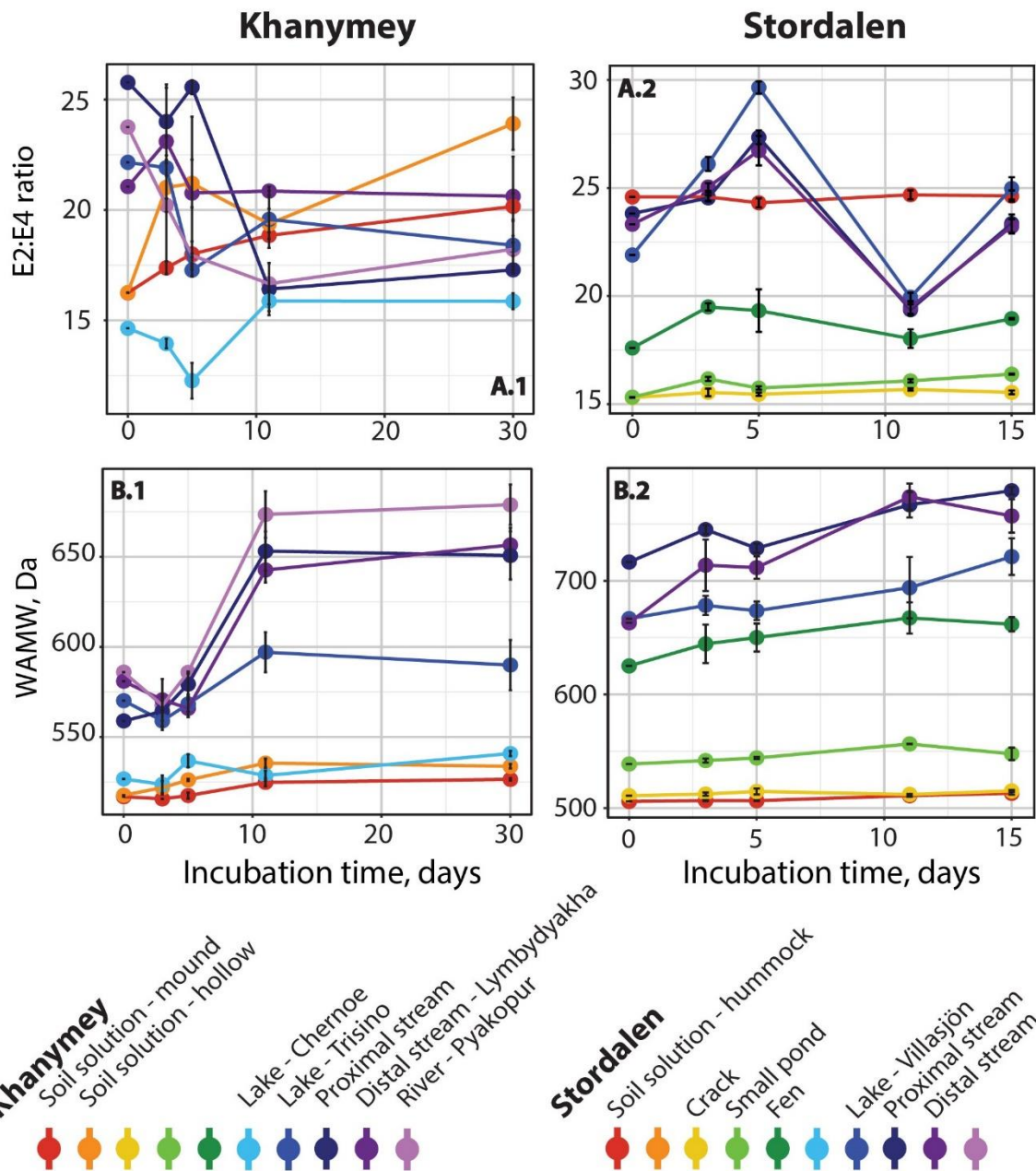


**Figure 3 - S 1 :** Map of Khanymey site and sampling points. A blue asterisk on the upper schematic map localized the site. The blue panel is a general picture of the site presenting the more distant sampling points (*i.e.* the Pyakopur River) and the yellow panel presents the other sampling points of the continuum. Red dots represent the sampling points.





**Figure 3 - S 2 :** Map of the Stordalen site and sampling points. A blue asterisk on the upper schematic map localized the site. The blue panel is a general picture of the site presenting the more distant sampling points (*i.e.* the distal stream) and the yellow panel presents the other sampling points of the continuum. Red dots represent the sampling points.



**Figure 3 - S 3** : Evolution E2:E4 ratio (A) and WAMW (B) of the Khanymey (.1) and Stordalen (.2) hydrological continuum. Note that the total incubation time is 30 days for the Khanymey continuum and 15 days for the Stordalen continuum.

Chapitre 4

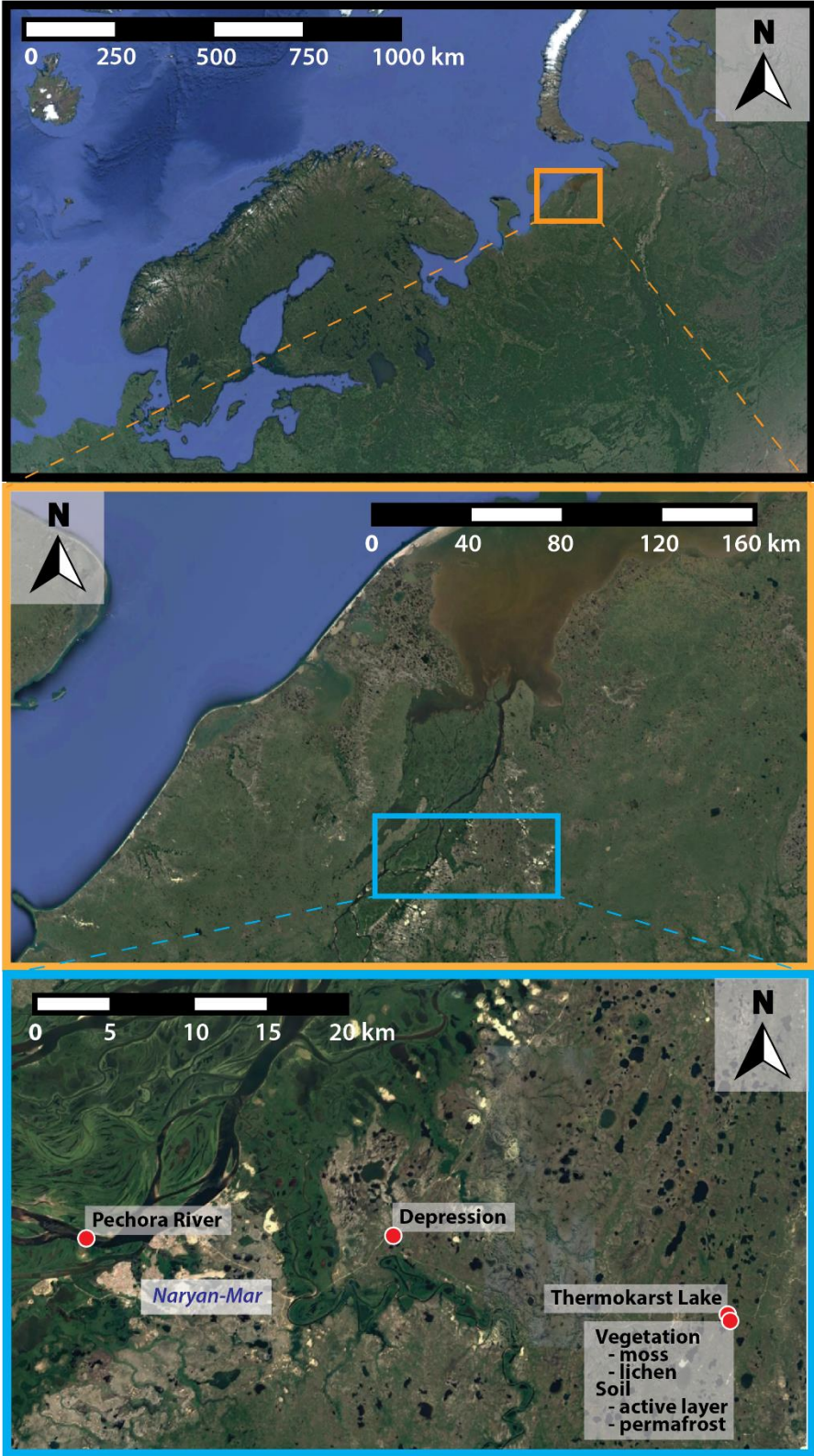
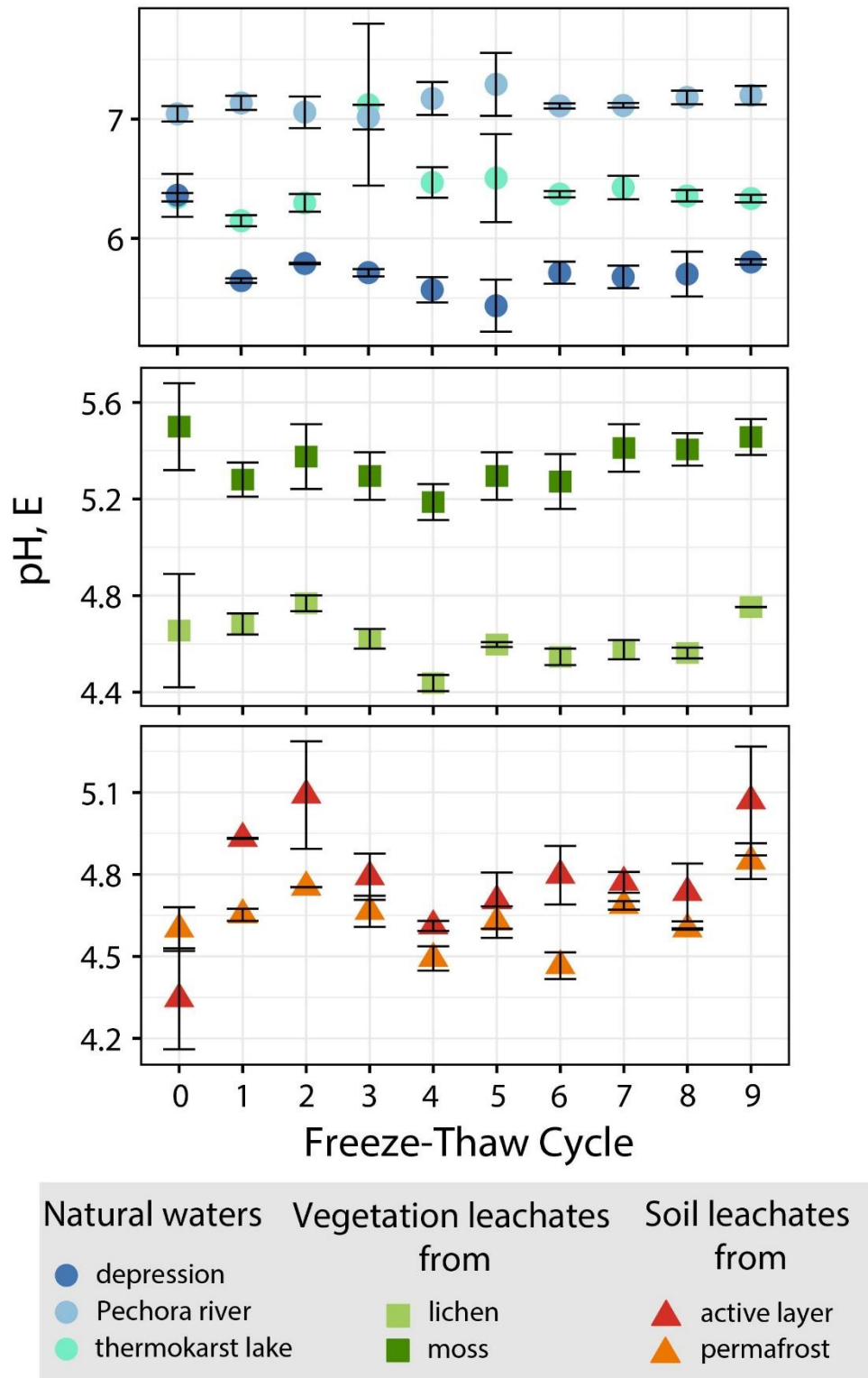
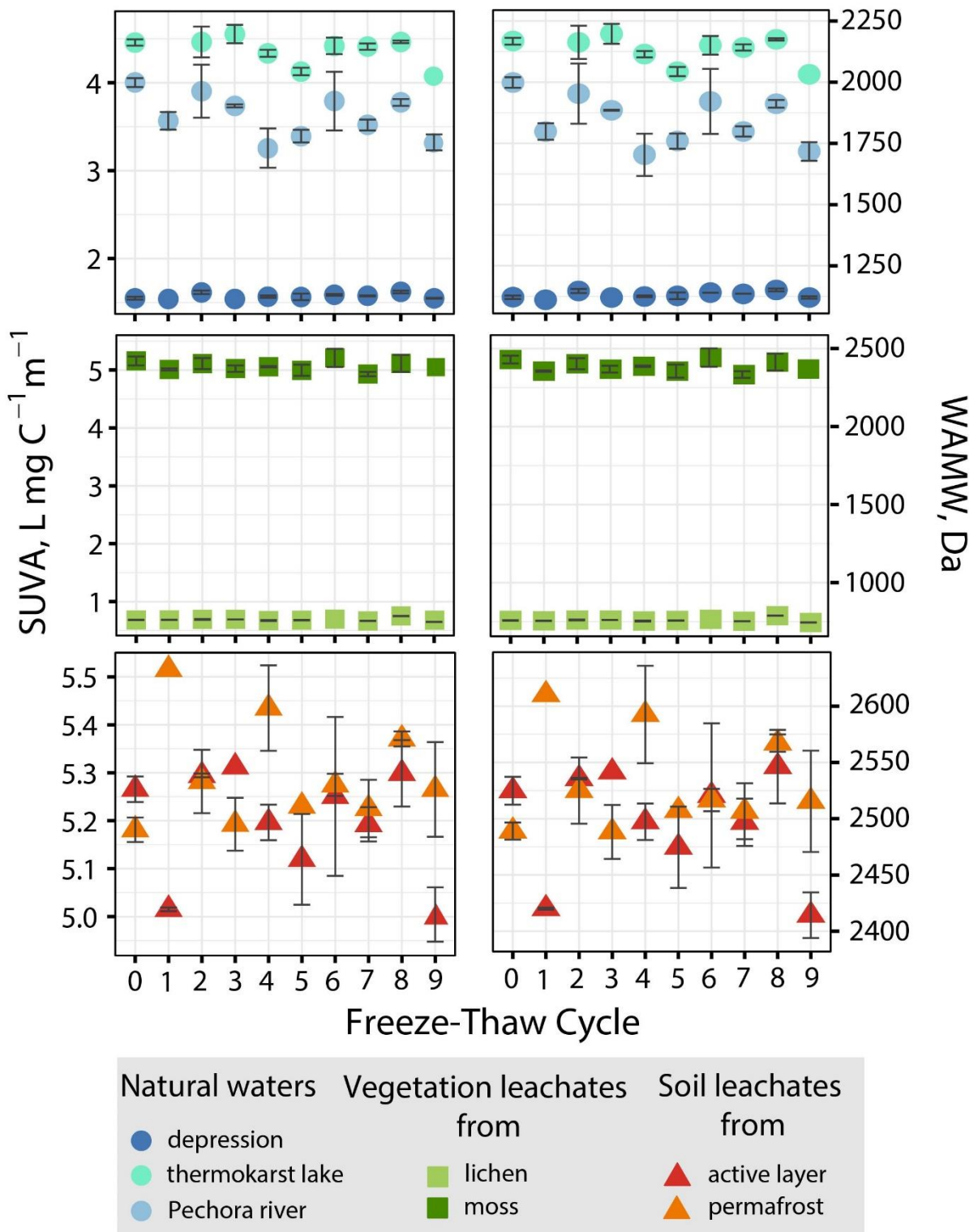


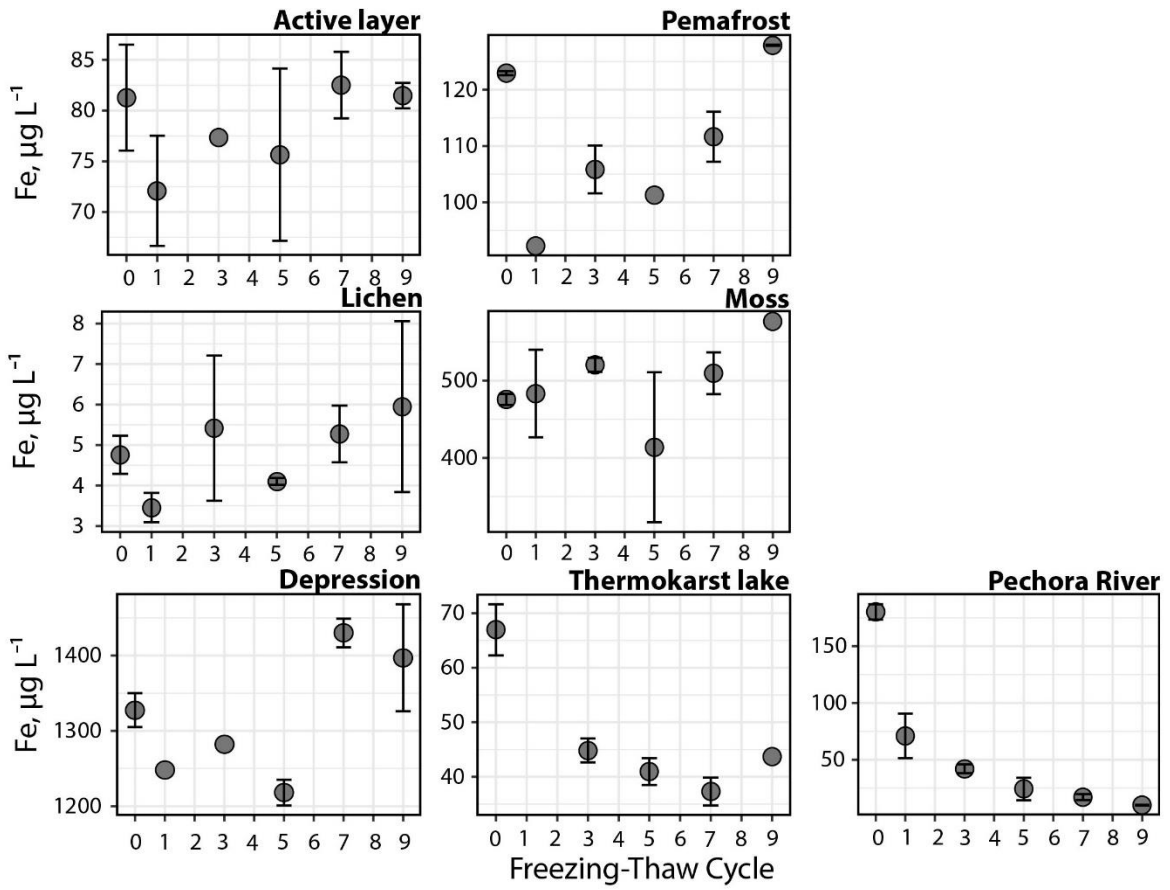
Figure 4 - S 1 : Localization map of the sampling spots (red dots) in the Bolshezemelskaya Tundra peatlands.



**Figure 4 - S 2 :** pH evolution during FTC for each substrate. Errors bars represent the variation between replicates.



**Figure 4 - S 3 :** SUVA<sub>254</sub> and WAMW evolution during FTC for each substrate. Errors bars represent the variation between replicates.



**Figure 4 - S 4 :** Fe concentration over FTC for each type of waters incubations.

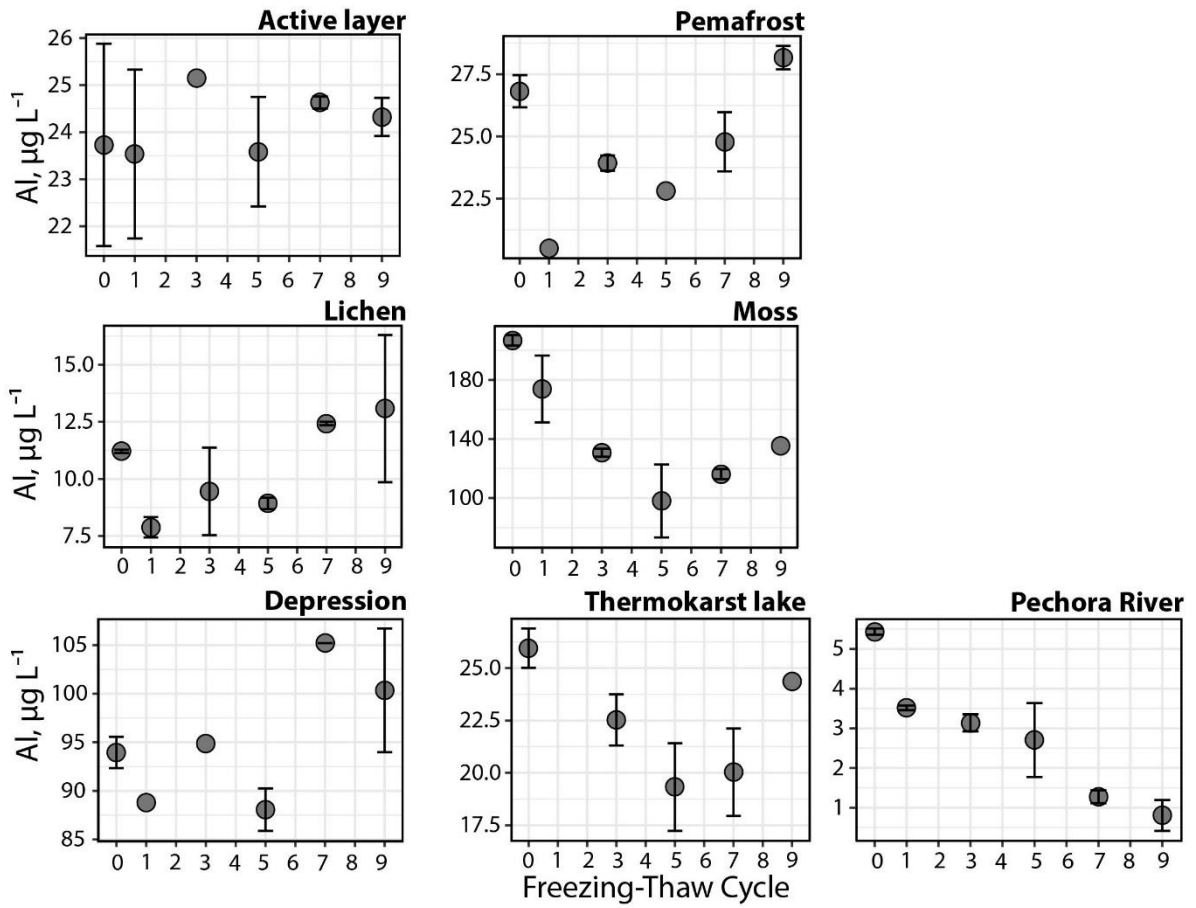
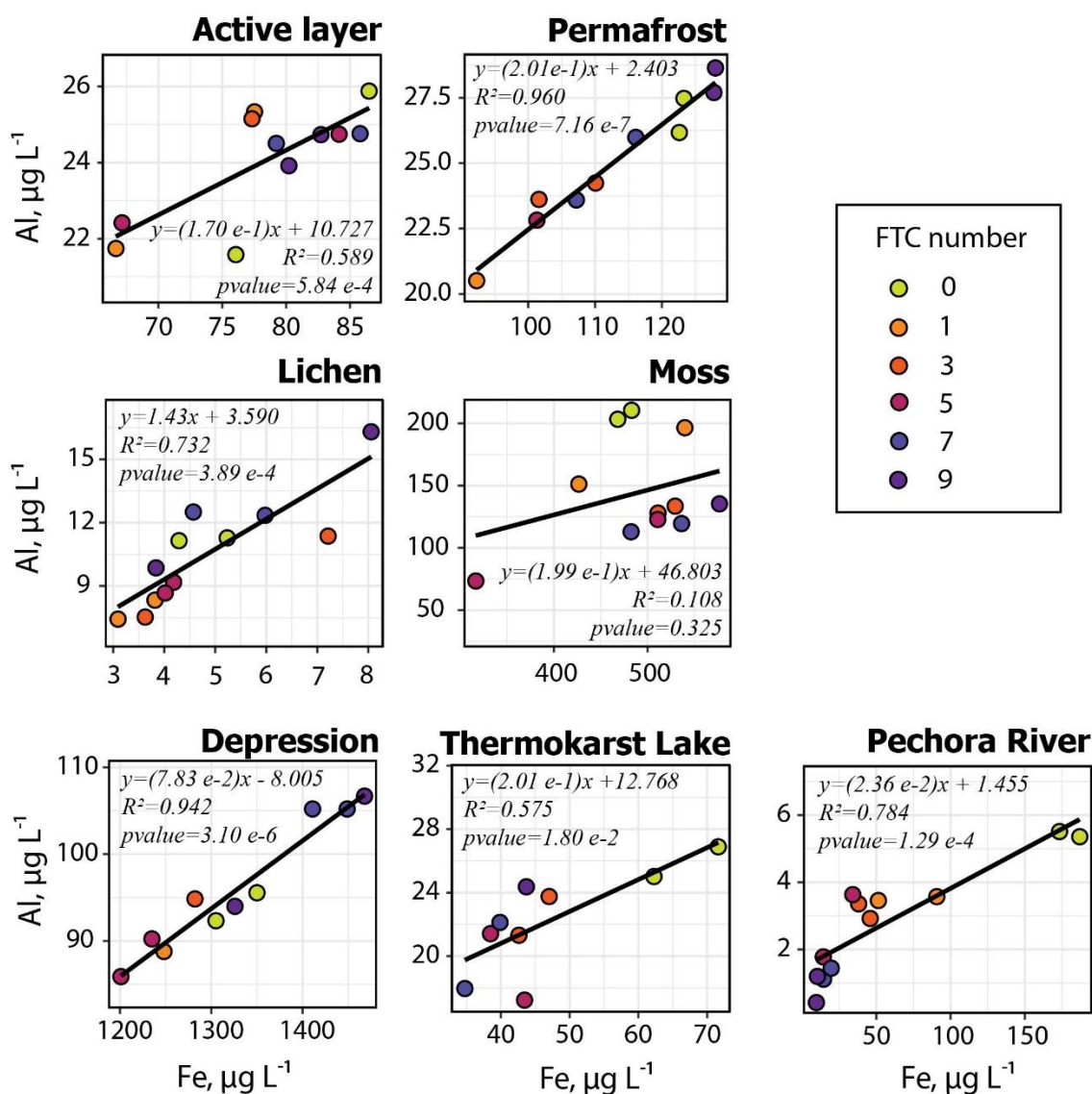
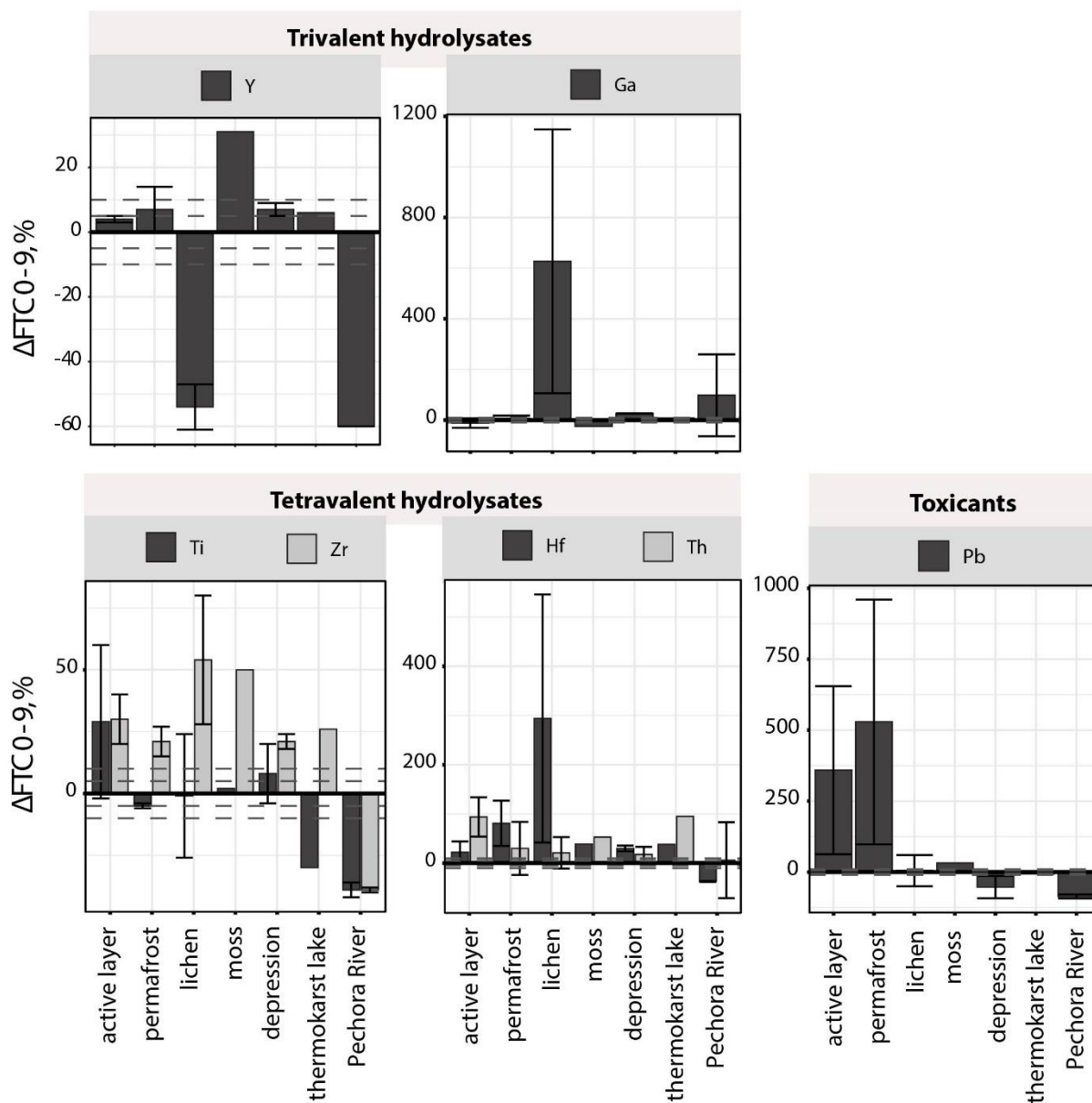


Figure 4 - S 5 : Al concentration over FTC for each type of waters incubations.

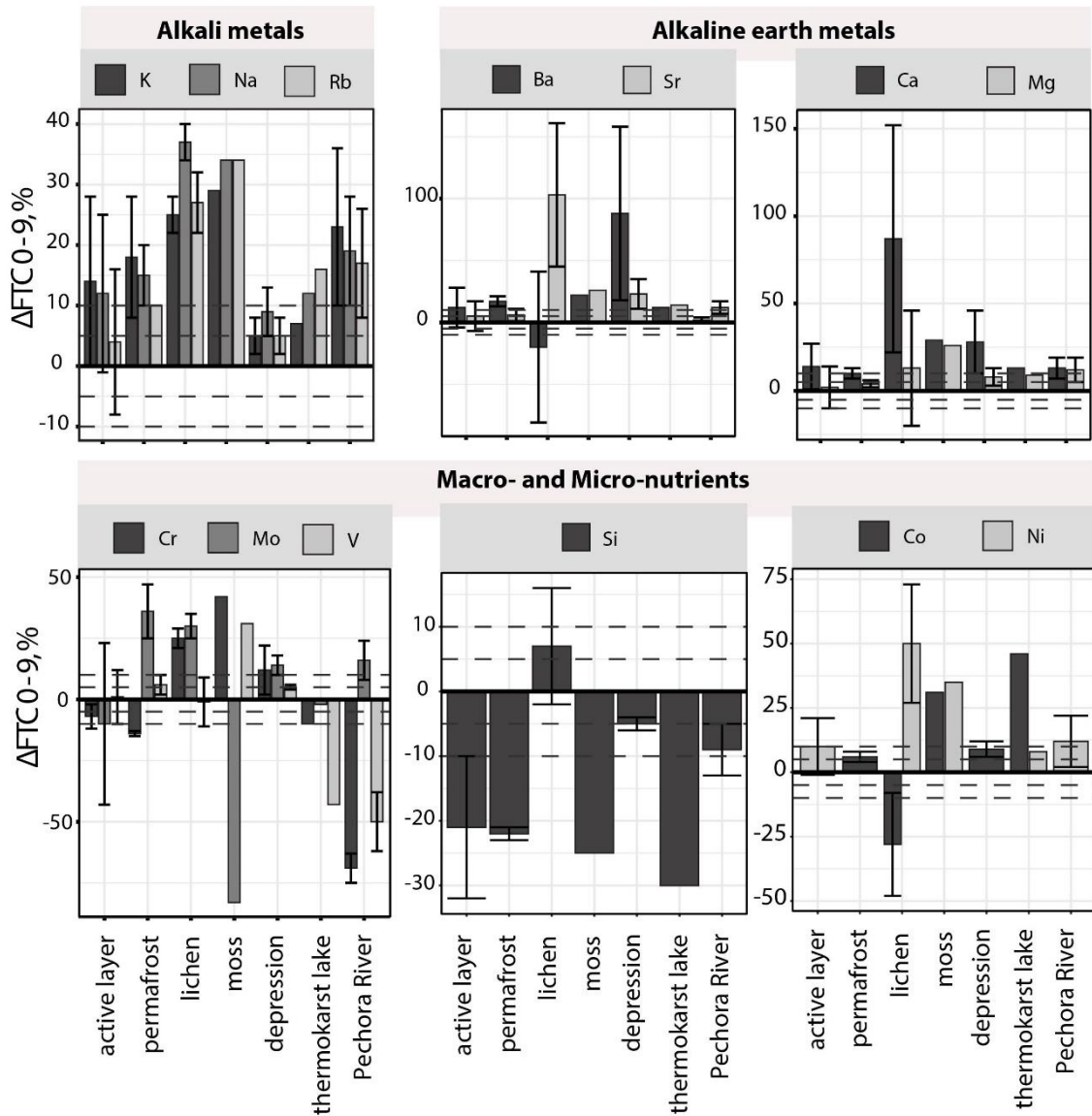


**Figure 4 - S 6 :** Co-evolution of Fe and Al concentrations during FTC experiment for each OM origins. Black line represents the linear regression. The equation of each linear regression is presented in the plot, as well as its corresponding correlation coefficient ( $R^2$ ) and the  $p$  value. In each plots the two points of the same cycle (FTC) represent replicates. In all the above listed examples, correlations of trace elements (TE) with Fe during FTC could indicate either co-precipitation and/or adsorption of TE at the surface of iron oxy-hydroxides secondary phase.





**Figure 4 - S 7 :** Percent variation of trivalent hydrolyses (Y and Ga), tetraivalent hydrolyses (Ti, Zr, Hf and Th) and toxicant (Pb) concentration between last and initial stage of FTC ( $\Delta\text{FTCO}-9$ ). Vertical dashed lines indicate variations of 5 and 10% (under and above 0). Errors bars represent the variation between replicates.



**Figure 4 - S 8 :** Percent variation of alkali metals (K, Na and Rb), alkaline earth metals (Ca and Mg) and macro- and micro-nutrients (Cr, Mo, V, I, Co and Ni) concentrations between last and initial stage of FTC ( $\Delta\text{FTC0-9}$ ). Vertical dashed lines indicate variations of 5 and 10% (under and above 0). Errors bars represent the variation between replicates.

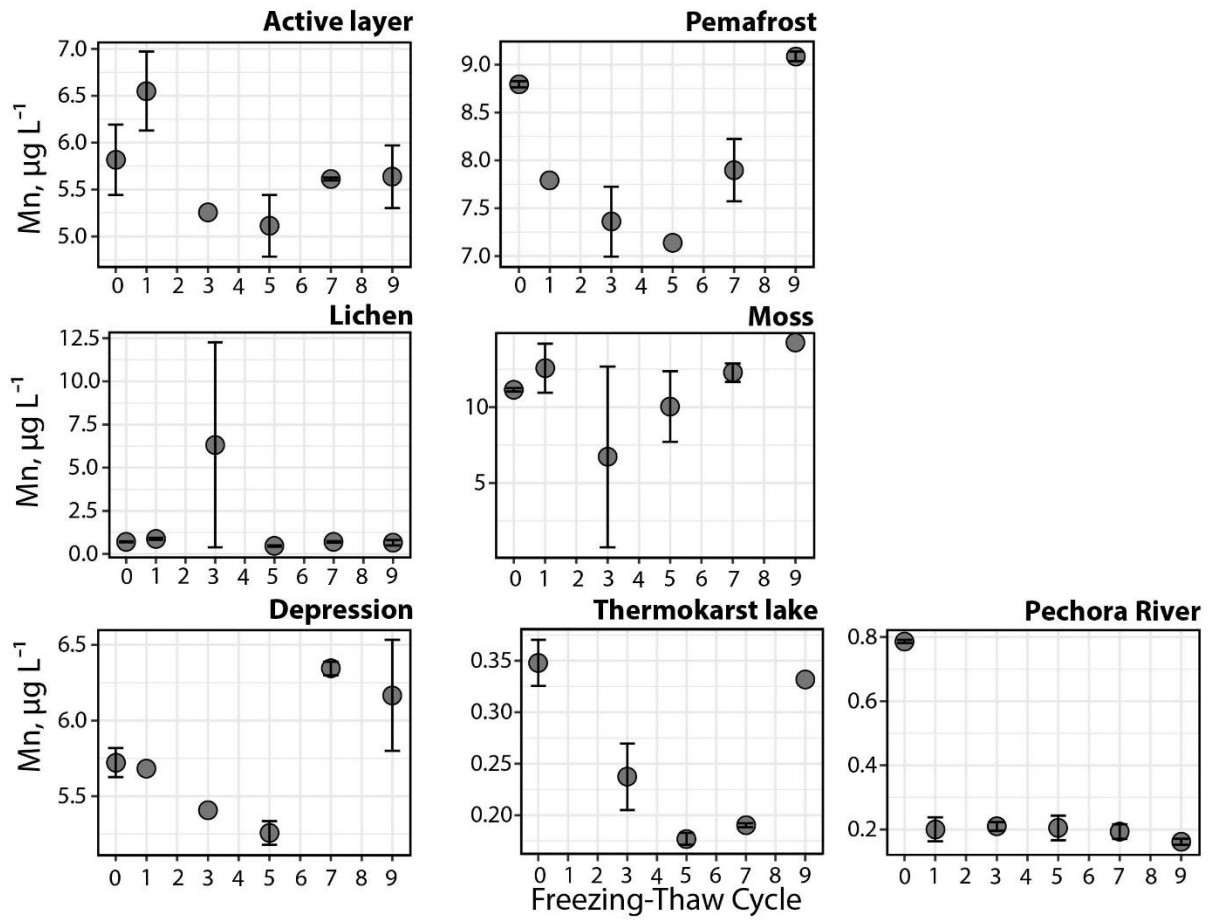
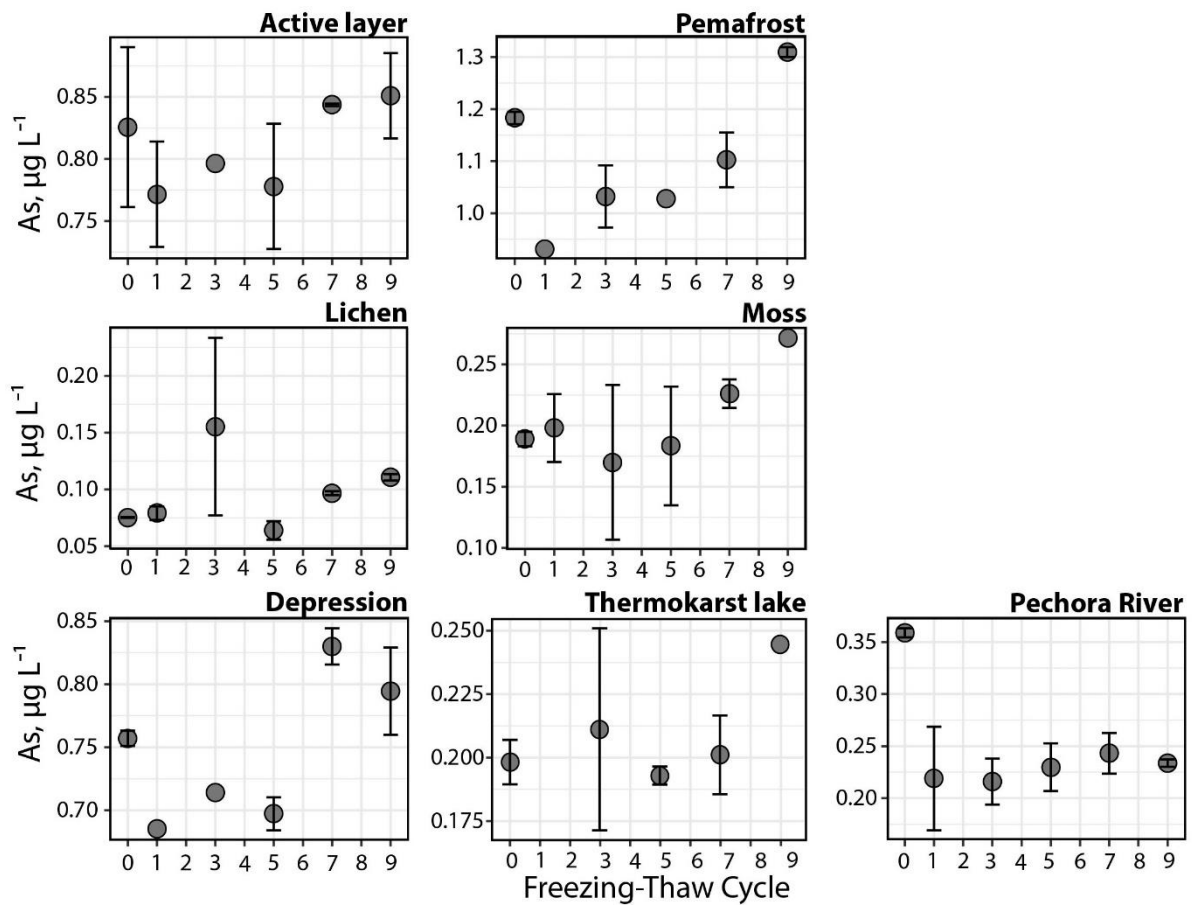
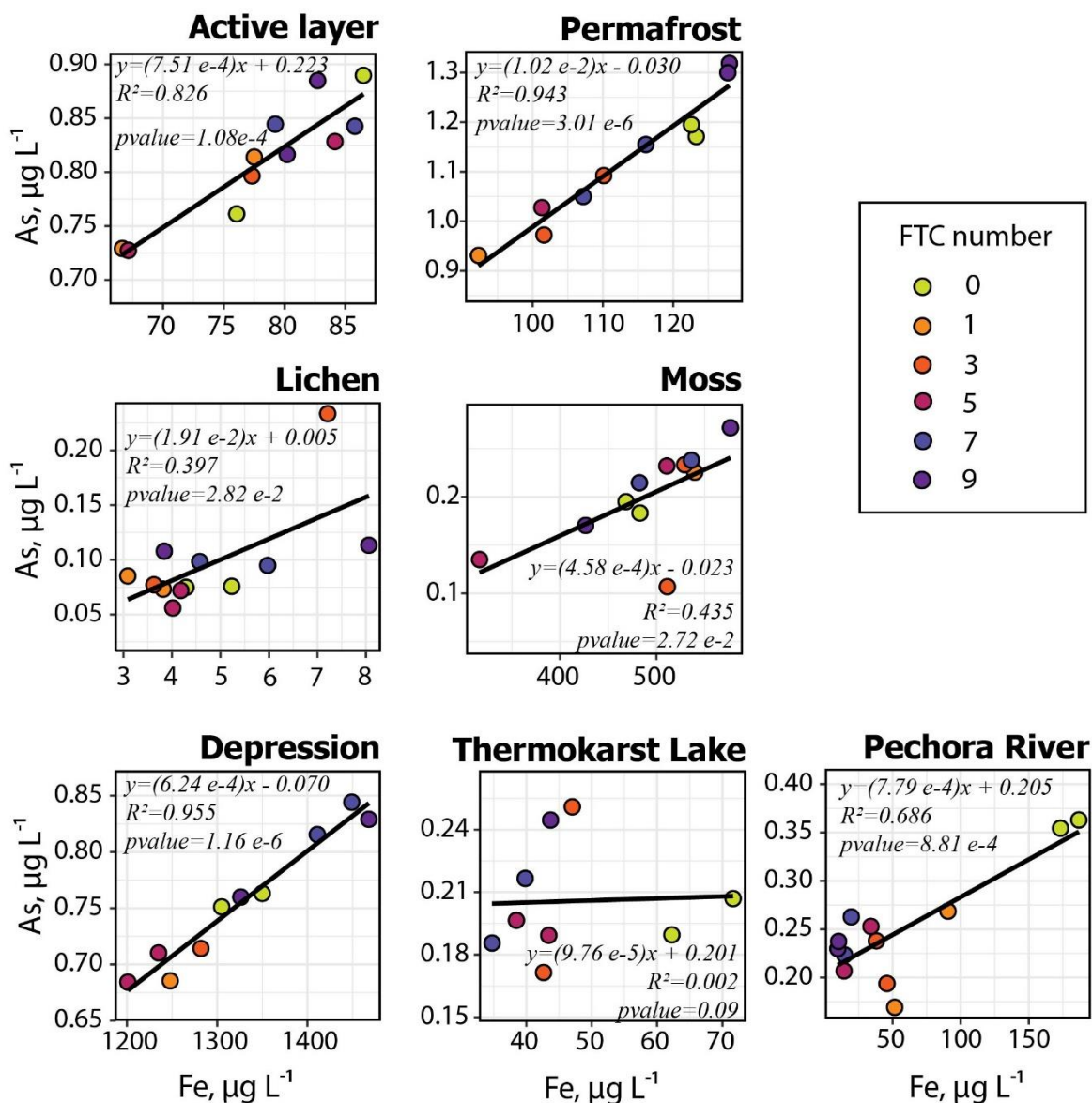


Figure 4 - S 9 : Mn concentration during FTC for each type of waters incubations.

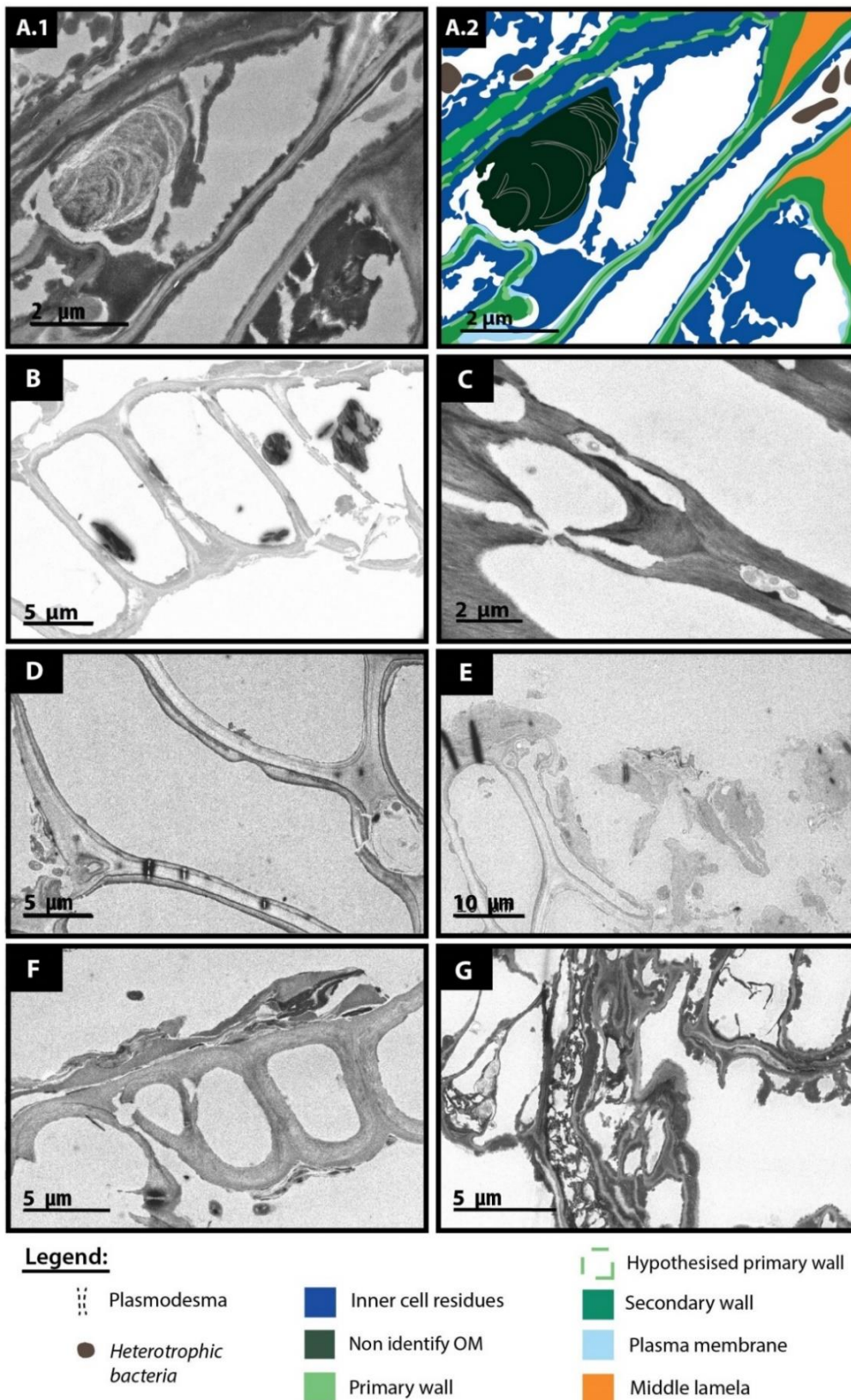


**Figure 4 - S 10 :** As concentration during FTC for each type of waters incubations.



**Figure 4 - S 11** : Co-evolution of Fe and As concentrations during FTC experiment for each OM origins. Black line represents the linear regression. The equation of each linear regression is presented in the plot, as well as its corresponding correlation coefficient ( $R^2$ ) and the  $p$  value. In each plots the two points of the same cycle (FTC) represent replicates.

Chapitre 5



**Figure 5 - S 1 :** Pictures of solid frozen peat (SFP, **A** before incubation ((**A.1**) TEM observation and (**A.2**) the related scheme interpretation) and after 29 days of incubation at 4 °C (**B** and **C**), 25 °C (**D** and **E**) and 45 °C (**F** and **G**)



**Auteur :** Dahédrey PAYANDI-ROLLAND

**Titre :** Biogéochimie du carbone organique dans les eaux de tourbières à pergélisols : une approche expérimentale.

**Directrice de thèse :** Pascale BENEZETH

**Co-directrice de thèse :** Liudmila SHIROKOVA

**Lieu et date de soutenance :** Toulouse, le 10 décembre

---

**Résumé court :**

L'objectif de cette thèse est d'évaluer les facteurs pouvant influencer la dégradation de la matière organique (MO) des tourbières à pergélisol dans un contexte de réchauffement climatique. Des études de terrains et des expérimentations en laboratoires ont été effectuées dans des zones à pergélisol discontinu de l'Est Sibérien, de la Suède et du NE de l'Europe. Parmi les résultats les plus marquants on retiendra : *i)* l'importance des nuits sur la production de CO<sub>2</sub> des lacs thermokarstiques ; *ii)* la diminution de la vitesse de biodégradation de la MO et l'augmentation de la biodégradabilité des eaux le long d'un continuum hydrologique ; *iii)* le fait que les cycles de gel-dégel n'influencent pas la dégradation de la MO mais favorisent la complexation MO-métaux dans les eaux des grands lacs et des rivières ; *iv)* l'impact similaire des basses températures et de celles d'été sur la biodégradation de la MO; et enfin *v)* le fait que lors du dégel anaérobie du pergélisol la biodégradation de la MO ne produit pas plus de CH<sub>4</sub> ni de CO<sub>2</sub> que la couche active.

---

**Title:** Biogeochemistry of organic carbon in permafrost peatland waters: an experimental approach.

**Short abstract:**

The main objective of this thesis is to assess the factors that could influence the organic matter (OM) degradation within a carbon-rich permafrost peatland in a global warming context. Field studies and laboratory experiments were carried out in discontinuous permafrost areas of Eastern Siberia, Sweden and NE Europe. The main results of this thesis highlight: *i)* the importance of night-time in the CO<sub>2</sub> production from thermokarst lakes; *ii)* the decrease of the OM degradation rate and the increase of the biodegradability of waters along the hydrological continuum; *iii)* that repeated freeze-thaw cycles do not influence the degradation of carbon but favor the OM-metals complexes in large lakes and rivers; *iv)* that low temperatures exhibit the same effect on biodegradation than the summer ones; and *v)* that the thaw of permafrost OM does not release a significantly different amount of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> from biodegradation processes compared to the active layer.

---

**Mots-clés :** biogéochimie, expérimentation, carbone, terrain, pergélisol discontinu, tourbières

---

**Discipline administrative :** Surfaces et interfaces continentales, Hydrologie

---

**Laboratoire :**

Géosciences Environnement Toulouse (UMR 5563)

14, avenue Edouard Belin, 31400 Toulouse