



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Sciences de la Terre

Ecole doctorale EGAAL

Marie Denis

Préparée à l'unité de recherche UMR 6118 CNRS
Géosciences Rennes
UFR Sciences et Propriété de la Matière

**Mécanismes de
solubilisation et
transfert de matières
organiques dissoutes
à l'échelle du bassin
versant agricole :
apport de l'étude de
la composition
moléculaire**

**Thèse soutenue à Rennes
le 27 Octobre 2017**

devant le jury composé de :

Marie-France DIGNAC

Chargée de Recherche INRA, AgroParisTech /
rapporteur

Fatima LAGGOUN - DÉFARGE

Directrice de Recherche CNRS, ISTO / *rapporteur*

Céline DESSERT

Physicienne adjointe CNAP, IPGP / *examineur*

Gilles PINAY

Directeur de Recherche CNRS, Université de
Rennes1 / *examineur*

Gérard GRUAU

Directeur de Recherche CNRS, Université de
Rennes1 / *directeur de thèse*

Laurent JEANNEAU

Chargé de Recherche CNRS, Université de
Rennes1 / *co-directeur de thèse*

Remerciements

Toutes les bonnes choses ont une fin... Alors que cette belle aventure de trois ans se termine je voudrais remercier toutes les personnes qui m'ont soutenue et qui ont contribué de près ou de loin à rendre ces trois années si agréables.

Tout d'abord, un grand merci à Gérard et Laurent pour m'avoir si bien guidée ces trois dernières années. Merci de m'avoir accordé votre confiance et de m'avoir donné l'opportunité de travailler avec vous sur ce sujet de thèse. Merci à vous deux pour votre disponibilité, vos encouragements et vos conseils. Et enfin merci d'avoir toujours été là, dans les moments où tout allait bien mais aussi dans les moments de doute.

Mention particulière pour toi Laurent, sans qui je n'aurai jamais connu le plaisir d'aller échantillonner les crues, parfois de nuit à la lampe frontale, pendant une alerte orange. Y a pas à dire, avec toi le terrain ça décoiffe !!!

Je tiens également à remercier les membres de mon jury, Marie-France Dignac, Fatima Laggoun-Défarge, Céline Dessert et Gilles Pinay, pour avoir accepté de juger ce travail. Merci pour vos questions et remarques constructives. Les moments d'échanges que nous avons pu avoir à l'issue de ma présentation ont été un réel plaisir pour moi.

Merci également à toute l'équipe GEI pour m'avoir si bien accueillie à mon arrivée. Avec quelques mentions spéciales :

Merci Patrice pour ton aide et ta bonne humeur, sur le terrain comme au labo. Merci pour ton acharnement à dompter ce lyophilisateur parfois très capricieux !

Merci Marine et Anaëlle, sans votre aide précieuse je n'aurai jamais pu avoir autant de données sur toutes ces charmantes petites molécules que nous avons été dénichées dans tous ces échantillons!

Emilie, un énorme merci pour avoir recueillie dans ton bureau une thésarde en fin de rédaction. Merci pour ta bonne humeur et tes encouragements au quotidien.

Merci Anne-Catherine pour ton aide et tes conseils sur la partie isotopie, mais aussi d'avoir été à mes côtés pour mes premiers pas du côté enseignement.

Merci Louison pour ton aide et ton implication. C'était un plaisir de t'avoir à mes côtés pendant ces quelques mois.

Un gigantesque merci à Stéphanie pour avoir géré le côté administratif et en particulier les ordres de missions déposés en catastrophe parce que bin une crue...ça se prévoit pas 3 semaines à l'avance! Merci d'avoir été une oreille attentive quand j'en ai eu besoin. Et pour finir, merci pour tes conseils de lecture, Terry Pratchett n'aura bientôt plus aucun secret pour moi!

Pour continuer ces remerciements, place à tous ceux qui ont su égayer les moments de pauses au labo et les moments de détente en dehors du labo.

Je ne peux que commencer par remercier du fond du cœur mes supers co-bureau du 321! Dans les rôles principaux j'ai nommé Charlotte et Hélène, fers de lance du trio! Cette aventure à Rennes n'aurait pas été aussi sympathique sans vous deux. Merci d'avoir été de si formidables piliers sur lesquels je savais pourvoir m'appuyer à chaque instant !

Honneur à la première à avoir soutenue, Dr. Cat ! Merci pour tout ce que tu as fait pour moi pendant ces trois ans. Merci pour ta bonne humeur et ton rire si contagieux ! (nos voisins de couloirs peuvent le confirmer...) Merci d'avoir été là, à chaque moment clé, pour me soutenir et m'aider à avancer. Maintenant il ne me reste plus qu'à venir faire un petit tour en Suisse. Un programme rando + chocolat avec toi, tu sais que je ne peux pas y résister !

Deuxième dans l'ordre de soutenance, Dr. Guénette ! Merci d'avoir rempli ces trois ans de ton rire, de tes blagues (presque aussi pourries que les miennes...), de références cinématographiques et kaamelotesques, de pizzas et de films (en VO !!!), de parties de badminton (avec et sans entorses !)... Bref, merci d'avoir toujours été là ! Et pour finir, merci de m'avoir permis de perfectionner mon accent alsacien. Je terminerai par un très sincère YOPLA !!! (tu sens le doux fumet de la choucroute et du bretzel là ?)

Maintenant c'est chose faite, avec le Dr. Wokdenouille le trio dans son ensemble est docteur ! I will continue in english to thank you Sen. It was a pleasure to share these field trips with you. I know you enjoyed these moments in the office 321, although it was full of chatty girls... Pour finir, encore une Lorraine (oui nous sommes partout !). Merci Edwige pour ta gentillesse. C'était un plaisir de partager tous ces moments avec toi, au labo ou en rando.

Aurélié, autre pilier indispensable de cette aventure. J'ai l'impression que tu as toujours été là, à venir faire tes pauses dans le bureau avec ton chronomètre à la main. Merci d'avoir égayé mes journées avec ta bonne humeur, ton soutien et tes encouragements dans la dernière ligne droite. Et puis merci pour ces nombreuses soirées parfois autour d'un match de rugby ou de hand (enfin quelqu'un qui vit aussi ... bruyamment? que moi les matchs) Il ne me reste qu'une chose à dire : C'EST LE MEILLEUR ANNIVERSAIRE DE TOUTE MA VIE !!! Merci également à Amaury, qui a su égayé nos soirées comme personne d'autre ne peut le faire.

A ton tour Luc, Lorrain (encore un !) qui m'a aidé à me sentir un peu comme à la maison. Même si tu viens du côté obscur de la Lorraine et qu'en bonne Mosellane je n'adresse habituellement pas la parole aux Meurthe et Mosellans, j'ai apprécié tous les moments passés ensemble. Quand je te manquerai (ne nie pas je sais que tu ne peux pas te passer de moi!) continue de chercher des petits cœurs roses dans ton appart, je suis certaine qu'il y en a toujours planqués quelque part !

Et puis ces trois ans n'auraient pas été pareils sans toi Leslie, fidèle marcheuse du dimanche. Merci d'avoir égayé de ton rire et de ta bonne humeur toutes ces balades et soirées passées ensemble, sans oublier cette semaine de vacances ! Merci infiniment d'avoir été là quand j'en avais besoin.

Un grand merci au club de joueurs de tarot pour avoir rendu ces pauses de midi si conviviales ! Je ne me lancerai pas dans un listing exhaustif de tous les joueurs qui se sont succédé au cours de ces trois ans de peur d'en oublier un trop grand nombre. Sachez juste que j'ai énormément apprécié votre compagnie et votre bonne humeur au cours de ces (très !) nombreuses parties ! Petit regret quand même de ne pas partir avec le record... Charline et Céline, tremblez ! Je reviendrai pour reconquérir ce titre tant convoité !

Et pour refermer ces remerciements bretons, merci aux doctorants, post-doc, ingénieurs qui contribuent grandement à la bonne humeur générale. Un grand merci à Maxime, Nataline, Baudouin (alias Mr Pesto), Camille (ou Cédric on ne sait plus !), Jessica, Alex, Loïc, Julien, Anne-Morwenn, Eliot, Diana, Marie-Françoise, Jérôme, Rémi, Louise, Anthony, Christian, Céline, Charline (ma petite padawan de tarot), Luc, Eli, Romain, Christophe, Nicolas, Thierry, Virginie... et tous ceux que je risque d'oublier...

Je n'oublie pas que toute cette histoire a commencé à Dijon ! Merci à tous mes anciens camarades « Géobiopotes » partis maintenant aux quatre coins de la France. Élise, Mathou, Lucie, Adeline, Nico, Olininou, Fidim, Alex, Simon, Benjamin, Julie, Justine, Tristan,... merci d'avoir été là, tout simplement.

Pour refermer cette parenthèse dijonnaise, merci à vous, Jean, Olivier, Mathieu et Philippe, pour avoir su me transmettre votre goût pour la recherche à travers vos cours et les deux stages que j'ai pu effectuer au labo.

*Pour terminer ce tour de France des remerciements, place à la Lorraine !
Merci à mes deux sœurs de cœur d'illuminer chacun des moments passés ensemble depuis toutes ces années. Que de chemins parcourus ensemble depuis notre rencontre sur les bancs du collège. Merci d'être toujours là, avec moi, depuis toutes ces années. Sarah, Maërie, merci à toutes les deux d'avoir fait mentir l'adage qui dit « loin des yeux, loin du cœur ».*

*Et enfin, du fond du cœur, merci à mes parents, ma sœur, mes grands-parents, oncles, tantes, cousins, cousines pour leurs soutiens et leurs encouragements.
Merci à vous, papa et maman, pour avoir toujours cru en moi. L'aboutissement de ces longues années d'études, c'est à vous que je le dois.*

SOMMAIRE

CHAPITRE 1 : Introduction générale

1. Les matières organiques dissoutes.....	25
1.1 Rôles environnementaux des MOD	25
1.2 Définitions	25
1.3 Origine des MOD et facteurs de contrôle.....	27
1.4 Transport des MOD le long du continuum sol-ruisseau	29
1.4.1 Transfert vertical en milieu insaturé	29
1.4.2 Transfert le long de la porosité	31
2. Dynamique de transfert des MOD à l'échelle du bassin versant.....	33
2.1 Contexte d'étude : le bassin versant	33
2.2 Transferts de MOD à l'échelle du bassin versant	34
2.2.1 Variation saisonnière de transfert à l'échelle du versant.....	34
2.2.2 Dynamique de transfert à l'échelle de la crue	37
3. Etude de la composition moléculaire des MOD	41
3.1 Développement des méthodes d'analyse moléculaires	41
3.2 Utilisation des biomarqueurs moléculaires dans l'étude des MOD	42
3.2.1 La notion de biomarqueurs moléculaires.....	42
3.2.2 Utilisation des principaux biomarqueurs	42
3.2.2.1 Les phénols : lignines et tannins.....	43
3.2.2.2 Les polysaccharides	47
3.2.2.3 Les lipides	50
4. Problématique et objectifs de la thèse	53

CHAPITRE 2 : Matériel et méthodes

1. Présentation du site d'étude et préparation des échantillons	59
1.1 Le bassin versant de Kervidy-Naizin	59
1.1.1 Historique du bassin versant.....	59
1.1.2 Géologie, nature et occupation des sols.....	61
1.1.3 Climatologie et caractéristiques hydrologiques.....	61
1.2 Dispositifs expérimentaux.....	62
1.2.1 Suivi météorologique.....	62
1.2.2 Suivi de la dynamique de nappe	62
1.2.3 Echantillonnage de la solution de sol	63

1.2.4	Suivis à l'exutoire	64
1.3	Zones d'étude	65
1.3.1	Transect de Kerrolland	65
1.3.2	Transect de Guériniec	65
1.3.3	Zone humide du Mercy.....	66
1.4	Echantillonnage	66
1.4.1	Echantillonnage basse fréquence.....	66
1.4.2	Echantillonnage haute fréquence des épisodes de crue	68
1.4.3	Les solutions de ruissellement.....	70
1.4.4	Les sols	70
2.	Caractérisation de la matière organique dissoute.....	70
2.1	Analyse quantitative du carbone	71
2.2	Absorbance UV-visible	71
2.3	Isotopie du carbone ($\delta^{13}\text{C}$)	71
2.4	Concentration en Fer II	72
2.5	Méthode d'analyse moléculaire par dégradation thermique	72
2.5.1	Thermochimiolysse	72
2.5.2	Couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse.....	74
2.5.3	Traitement des données	75
2.6	Analyses statistiques	76

CHAPITRE 3 : A comparative study on the pore-size and filter type effect on the molecular composition of soil and stream dissolved organic matter

1.	Introduction.....	87
2.	Material and methods.....	89
2.1	Sampling and sample preparation	89
2.2	Analytical methods.....	90
2.2.1	DOC concentration and UV-visible spectroscopic data	90
2.2.2	Isotopic data.....	91
2.2.3	Molecular data	91
2.3	Data treatment and statistical analyses	92
3.	Results	94
3.1	Bulk DOM descriptors (DOC, SUVA, $\delta^{13}\text{C}$).....	94
3.2	Molecular data.....	96
4.	Discussion.....	100
4.1	Is there a filter effect on bulk-scales descriptors?	100
4.2	Is there a filter effect on molecular composition?	100

4.3	A gap in the POM-DOM continuum?	102
5.	Conclusion	103

CHAPITRE 4 : New molecular evidences for surface and sub-surface soil erosion controls on the composition of stream DOM during storm events

1.	Introduction.....	115
2.	Material and methods.....	117
2.1	Study site	117
2.2	Water and soil sampling	117
2.3	In-stream process simulation.....	119
2.4	Sample preparation and chemical analyses	120
2.5	Molecular analysis.....	120
2.6	Statistical treatments	121
3.	Results	123
3.1	Hydrology.....	123
3.2	Molecular composition of the SOM.....	124
3.3	Molecular composition of the soil solution DOM	126
3.4	Molecular composition of the surface runoff	128
3.5	Molecular composition of the stream water DOM.....	128
3.6	Molecular composition of the in-stream process DOM	129
4.	Discussion.....	129
4.1	Is the DOM composition modified in soil solutions during storm events?.....	129
4.2	What are the hydrological drivers of these modifications?	130
4.3	Are these modifications recorded in the stream DOM?	131
4.4	Conceptual model for colloidal-DOM mobilization in soil solutions during storm events	134
5.	Conclusion	136

CHAPITRE 5 : Hétérogénéité et évolution de la composition moléculaire des MOD à l'échelle du bassin versant

Avant-propos	145
---------------------------	------------

PARTIE 1

Hétérogénéité spatiale de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol à l'échelle du bassin versant	146
--	------------

1.	Introduction.....	146
2.	Matériel et méthode	147
2.1	Echantillonnage	147
2.2	Traitement statistique	147

3. Résultats.....	148
3.1 Dynamique de nappe	148
3.2 Evolution de la concentration en COD	148
3.3 Evolution de la concentration en Fe II	150
3.4 Evolution du SUVA ₂₅₄	152
3.5 Les phénols.....	153
3.6 Les acides gras	153
4. Discussion.....	156
4.1 Concentrations en COD, FeII et SUVA ₂₅₄	156
4.1.1 Mise en place de conditions réductrices	156
4.1.2 Hétérogénéité spatiale.....	160
4.1.3 Evolution avec la profondeur	162
4.2 Distribution des phénols.....	162
4.2.1 Hétérogénéité spatiale.....	163
4.2.2 Evolution avec la profondeur	163
4.3 Distribution des acides gras phospholipidiques	165
4.3.1 Hétérogénéité spatiale.....	165
4.3.2 Evolution avec la profondeur	166
5. Conclusion	167

PARTIE 2

Identification d'un transfert de versant en lien avec la dynamique de nappe sur le transect de Kerrolland.

1. Introduction.....	168
2. Matériel et méthode	170
2.1 Echantillonnage	170
2.2 Traitement statistique	171
3. Résultats.....	172
3.1 Hydrologie.....	172
3.2 Concentration en COD	174
3.3 Concentration en CID.....	175
3.4 Concentration en Fe II.....	176
3.5 Signature isotopique	176
3.6 Distribution des phénols.....	177
4. Discussion.....	179
4.1 Transfert du versant vers la zone humide riparienne	179
4.2 Impact des conditions hydrologiques sur la composition des MOD.....	182

4.3	Conséquences d'une baisse de la vitesse de circulation de l'eau sur la biogéochimie des MOD.	187
4.3.1	Cas de la zone humide riparienne.....	187
4.3.2	Cas du versant agricole.....	189
5.	Conclusion	191
	Conclusion et perspectives	195
	Bibliographie	203

Liste des Figures

CHAPITRE 1

Figure 1-1 : Continuum de taille des matières organiques. D'après Verdugo et al. (2004)....	26
Figure 1-2 : Représentation schématique du modèle conceptuel de circulation verticale de la MOD des sols proposé par Kaiser et Kalbitz (2012).	30
Figure 1-3 : Représentation schématique du concept de production et de transport de MOD dans les sols le long de la porosité d'après Worrall et al., (2008).....	31
Figure 1-4 : Relation observée entre la quantité de COD exporté par unité de surface et la superficie du bassin versant. (Agren et al. 2007)	33
Figure 1-5 : Schéma conceptuel du transfert de MOD depuis les hauts de versants vers les zones ripariennes.	36
Figure 1-6 : Schéma représentant le transfert de versant sur le bassin versant de Kervidy-Naizin d'après Lambert et al. (2014).	38
Figure 1-7 : Composition moléculaire de la MOD à l'exutoire du bassin versant de Kervidy Naizin en période hors crue et en crue, et comparaison avec les MOD de solutions de sol en période hors crue et avec la MOS. D'après Jeanneau et al., (2015).....	40
Figure 1-8 : Relation entre le rapport C/V et la turbidité pendant plusieurs crues, pour la phase ascendante de la crue (losanges gris) et la totalité de la crue (losanges noirs). D'après Jeanneau et al., (2015).	40
Figure 1-9 : Structure des trois principaux précurseurs de la lignine (Me = CH ₃).....	44
Figure 1-10 : Exemple de représentation d'une macromolécule de lignine et identification des liaisons responsables de l'assemblage des différentes unités (Laurichesse et Avérous, 2014).....	44
Figure 1-11 : Structure des tannins. A) exemple d'un tannin condensé, B) exemple d'un tannin hydrolysable, ici un gallotannin. D'après Kraus et al. (2003).....	45
Figure 1-12 : Exemple illustrant la scission d'une liaison β -O-4 au cours de la thermochimiolysse, et la méthylation des phénols obtenus.	46
Figure 1-13 : Mécanisme de production des acides déoxy aldoniques perméthylés formés lors de la réaction de thermochimiolysse en présence de TMAH. Exemple du glucose et du xylose. D'après Fabbri et Helleur (1999).....	49
Figure 1-14 : Exemple de structure d'acides gras et signification de leur écriture symbolique	50
Figure 1-15 : Structure des cutines et subérines proposées par Kolattukudy (1980).....	51

CHAPITRE 2

Figure 2-1 : Localisation du bassin versant de Naizin et du sous-bassin de Kervidy-Naizin.	60
Figure 2-2 : Zones et caractéristiques climatiques de Bretagne	62
Figure 2-3 : gauche - schéma d'un piège à eau (Dupas et al ; 2015a) ; droite - collecte d'un échantillon par pompage manuel.....	63
Figure 2-4 : gauche - seuil à l'exutoire du bassin versant ; droite - préleveurs automatiques situés quelques mètres en amont du seuil.....	64
Figure 2-5 : Localisation sur le bassin versant de Kervidy-Naizin de la zone humide et des deux transects faisant l'objet d'un suivi. Description des zones d'implantation des piézomètres et des pièges à eau.....	67
Figure 2-6 : Identification des dates d'échantillonnage basse fréquence au cours des trois années hydrologiques.	68
Figure 2-7 : Identification des crues ayant fait l'objet d'un échantillonnage haute fréquence au cours des trois années hydrologiques.	69
Figure 2-8 : Schéma du dispositif d'analyse de pyrolyse couplée au système de chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse.....	73
Figure 2-9 : Exemple d'un chromatogramme obtenu pour l'analyse d'un échantillon de matière organique dissoute.....	75

CHAPITRE 3

Figure 3-1: Map of the Kervidy-Naizin catchment (Brittany, France) and location of the sampling sites	90
Figure 3-2: Graphical representation of the difference between DOM<0.2 µm and DOM<0.7 µm as a function of their mean for DOC concentration, spectroscopic and isotopic parameter, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean. * indicate values defined as outliers and excluded from the dataset used to perform the paired t-tests.	95
Figure 3-3 : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 µm and DOM < 0.7 µm as a function of their mean for %LIG, %FA and %CAR, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean.	98

- Figure 3-4** : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for C/V, S/V and LIG concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean. **98**
- Figure 3-5** : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for %F_{Amic} and FA concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean. **99**
- Figure 3-6** : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for C₆/C₅ and CAR concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean. **99**

CHAPITRE 4

- Figure 4-1** : Map of the Kervidy-Naizin catchment (Britany, France). The soil solutions were sampled in the wetland area of the transect. The stream waters were sampled at the outlet of the catchment. **118**
- Figure 4-2** : Daily rainfall, water table level and discharge during hydrological years 2014/2015 and 2015/2016. The storm events were sampled when water remains in surface horizons in wetland area (hydrological period B – grey areas). This period is characterized by hydrological connectivity between mid-slope and wetland soils during rain events. **118**
- Figure 4-3** : Hourly rainfall, discharge and ΔH for events 1,2 and 3. Evolution of DOC concentration and C/V in stream water and soil solution..... **124**
- Figure 4-4** : Box-plot of %LIG, %CAR, %FA and *f_{mic}* in soil, surface runoff, stream water and soil solution during storm-flow and base-flow conditions. Letters not shared across box-plot indicate significant mean differences using Dunn's test of multiple comparison. **125**
- Figure 4-5** : Coordinate on F1 axis from (a) LIG, (b) CAR and (c) FA molecular distribution PCA analysis for soil, surface runoff, stream water and soil solution during storm-flow

and base-flow. Letters not shared across box-plots indicate significant mean differences using Dunn's test of multiple comparison.....	127
Figure 4-6 : Evolution of LIG distribution evidenced by PCA analysis as a function of ΔH	131
Figure 4-7 : Estimated contribution of surface runoff, soil solution and groundwater to stream DOC export.	133
Figure 4-8 : Schematic representation of DOM mobilization mechanisms involved during storm events in soils. Mobilisation of DOM during storm flow conditions by (1) colloidal destabilization and/or (2) particulate destabilization combined with (3) chemical equilibrium processes.	135
Figure 4-S1 : Evolution of LIG distribution during event 2.....	140
Figure 4-S2 : Concentration of nitrates, sulphates and chlorides in soil solutions during events 1 and 2.	140
Figure 4-S3 : Comparison of DOC concentration measured at the outlet and DOC concentration estimated from deep groundwater, soil solution, surface runoff concentrations and their relative contribution to the discharge from events 1 and 2.....	140

CHAPITRE 5

Figure 5-1 : Evolution de la dynamique de nappe sur les transect de Kerrolland (K1 et K3) et Guériniac (G2 et G3).	149
Figure 5-2 : Evolution du $SUVA_{254}$ ainsi que la concentration en COD et en Fe II pendant les trois années de suivi pour les différents points de prélèvement situés sur le bassin versant de Kervidy-Naizin.	151
Figure 5-3 : Résultats de l'ACP effectuée à partir de la distribution des phénols. Le plan de l'ACP a été construit à partir des deux premières composantes principales qui permettent de représenter 43.4% de la variance.	154
Figure 5-4 : Résultats de l'ACP effectuée à partir de la distribution des acides gras phospholipidiques. Le plan de l'ACP a été construit à partir des deux premières composantes principales qui permettent de représenter 44.9% de la variance.	157
Figure 5-5 : Corrélations observées entre la concentration en COD et la concentration en Fe II pendant la phase de bioréduction à K1 et M pour les deux profondeurs d'échantillonnage.	159
Figure 5-6 : Evolution de la concentration en COD en fonction du nombre de jours de saturation du sol consécutifs avant la date de prélèvement, pour les points K1 et K3 aux	

deux profondeurs d'échantillonnage. Pour le point d'échantillonnage K1, les points d'échantillonnage ayant lieu pendant la phase de bioréduction n'ont pas été pris en compte.	161
Figure 5-7 : Représentation en box plot des valeurs du ratio $Ad/Al_{(v)}$ mesurées sur les MOD des solutions de sol prélevées à G2 et G3 dans l'horizon de surface (15 cm) et l'horizon profond (50 cm).	164
Figure 5-8 : Représentation schématique de l'hypothèse de transfert de versant.	169
Figure 5-9 : Evolution du débit, de la concentration en COD et du $\delta^{13}C$ à l'exutoire du bassin versant de Kervidy-Naizin pendant 6 crues ayant eue lieu au cours de l'année hydrologique 2010/2011. D'après Lambert et al. (2014).	171
Figure 5-10 : Evolution de la concentration en COD, CID et Fe II dans les solutions de sol à K1-10 cm et K3-15 cm pendant les trois années de suivi. Evolution de la dynamique de nappe à K1 et K3.	173
Figure 5-11 : Précipitations journalières et évolution du niveau de nappe aux points K1, K3 et K4. La localisation des différents points sur le transect est disponible sur la Figure 2-5.	174
Figure 5-12 : Evolution annuelle de la signature isotopique du carbone $\delta^{13}C$ (A) et de la distribution des phénols (B) dans la zone de haut de versant (K3) et dans la zone humide riparienne (K1) du transect de Kerrolland.	178
Figure 5-13 : Evolution de la signature isotopique du carbone ($\delta^{13}C$) des MOD obtenues par lessivage de colonnes de sol prélevées dans la zone humide du Mercy, pour deux températures différentes. Ces données obtenues par Thibault Lambert ne sont pas publiées.	180
Figure 5-14 : Résultats de l'ACP effectué à partir de la distribution des phénols des solutions de sol prélevées sur le transect de Kerrolland (K1-10 cm et K3-15 cm). Les échantillons de solutions de sol prélevées à K1-10 cm pendant les crues 1 et 2 ont été ajoutés en tant que données complémentaires.	184
Figure 5-15 : Evolution de la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP en fonction du ΔH pour les solutions de sol prélevées à K1-10 pendant l'échantillonnage basse fréquence au cours des trois ans de suivi et haute fréquence pendant les crues 1 et 2.	184
Figure 5-16 : Représentation schématique du mouvement vertical et horizontal du front redox dans les sols soumis à une saturation en eau.	189
Figure 5-17 : Corrélation entre la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP et le rapport C/V pour les solutions de sol prélevées à K3-15 pendant la période B.	191

Figure 5-18 : Corrélation entre la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP et la concentration en CID pour les solutions de sol échantillonnées à K3-15 en période B. **191**

Liste des Tableaux

CHAPITRE 2

Tableau 2-1 : Liste des molécules issues des lignines et des tannins identifiées sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM.	77
Tableau 2-2 : Liste des monosaccharides identifiés sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM	78
Tableau 2-3 : Liste des molécules issues des acides gras identifiées sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM.....	78

CHAPITRE 3

Tableau 3-1: Number of samples, minimal, maximal and mean value of the dataset for each parameter and <i>p-value</i> of the paired t-test. A <i>p-value</i> > 0.05 indicate no significant differences.	95
Tableau 3-S1: Samples characteristics and identification of the samples used for molecular analysis.....	105
Tableau 3-S2: List of the analyzed compounds and their appropriate m/z ratio and mass spectra factor (MSF). * indicate compounds retained for PCA analysis.	106

CHAPITRE 4

Tableau 4-S1: List of the analyzed compounds and their appropriate m/z ratio and mass spectra factor (MSF).....	138
--	-----

CHAPITRE 5

Tableau 5-1 : Tableau récapitulatif des résultats de l'ANOVA à un facteur effectué sur la distribution moléculaire des phénols. Le DDL correspond au nombre de degrés de liberté. Le test a été réalisé avec un intervalle de confiance à 95%.	154
Tableau 5-2 : Matrice des corrélations obtenues par le test de Tuckey avec un intervalle de confiance à 95%. Les valeurs en gras indiquent les paires pour lesquelles la différence est significative.	155
Tableau 5-3 : Constitution des groupes sur la base des corrélations obtenues par le test de Tuckey (Tableau 5-2). Deux points de prélèvements appartenant à un même groupe ne sont pas significativement différents.....	155

Tableau 5-4 : Tableau récapitulatif des résultats de l'ANOVA à un facteur effectué sur la distribution moléculaire des acides gras. Le DDL correspond au nombre de degrés de liberté. Le test a été réalisé avec un intervalle de confiance à 95%.	157
Tableau 5-5 : Matrice des corrélations obtenues par le test de Tuckey avec un intervalle de confiance à 95%. Les valeurs en gras indiquent les paires pour lesquelles la différence est significative	158
Tableau 5-6 : Constitution des groupes sur la base des corrélations obtenues par le test de Tuckey (Tableau 5-5). Deux points de prélèvements appartenant à un même groupe ne sont pas significativement différents.....	158

Chapitre 1

Introduction générale

1. Les matières organiques dissoutes

1.1 Rôles environnementaux des MOD

Les matières organiques dissoutes (MOD) sont à la confluence entre plusieurs compartiments : pédosphère, hydrosphère, biosphère et atmosphère. Cette situation leur confère une grande réactivité vis-à-vis de leur environnement et multiplie les possibilités d'interactions des MOD avec ces différents compartiments. Ainsi, les MOD sont impliquées dans de nombreuses problématiques environnementales actuelles.

Les MOD constituent une source d'énergie importante pour les microorganismes présents dans les sols et dans les milieux aquatiques. Ainsi, la quantité et la qualité de la ressource en MOD disponibles ont été identifiés comme des facteurs pouvant impacter le développement et la diversité des communautés microbiennes (Eiler et al., 2003; Landa et al., 2014). En retour, une diversité microbienne plus développée permet l'utilisation d'une diversité plus grande de molécules qui composent la MOD (Logue et al., 2016). Les MOD constituent également une source de nutriments essentiels pour le bon développement des végétaux. L'ensemble de ces interactions font donc des MOD un facteur de contrôle de la biodiversité.

Présentes des eaux continentales jusqu'aux océans, les MOD constituent un compartiment essentiel et très réactif du cycle du carbone (Ciais et al., 2013). Lors de la dégradation de ces MOD par la biomasse microbienne des sols, une partie du carbone est minéralisée sous forme de dioxyde de carbone ou de méthane. Une partie de ces gaz carbonés est dégazée vers l'atmosphère via la respiration du sol ou le dégazage des eaux de surface par équilibre avec l'atmosphère (Schlesinger et Andrews, 2000). Ces deux gaz à effet de serre occupent une place centrale dans les problématiques climatiques actuelles, par les boucles de rétroactions dont elles font partie (Friedlingstein et al., 2006). Ainsi le devenir des MOD, leur stabilisation ou leur dégradation le long du continuum sol/eau et l'impact que les changements climatiques futurs pourraient avoir sur leurs devenirs sont intégrés dans les études portant sur les changements climatiques futurs (IPCC 2014; Cox et al., 2000).

Les MOD jouent également un rôle important dans les problématiques de pollutions et de qualité de l'eau. Leur faculté à former des complexes avec des polluants métalliques tels que l'arsenic, le zinc et le cuivre (Bauer et Blodau, 2006; Cheng et al., 2005; Sarathy et Allen, 2005), ou avec des polluants organiques tels que les pesticides et les résidus médicamenteux

(Pinto et al., 2015; Zhang et al., 2014) en font une voie de diffusion de ces polluants dans l'environnement. Ces complexes entre la MOD et les polluants contrôlent leur toxicité et leur biodisponibilité vis-à-vis des organismes vivants (Knauer et al., 2017). La concentration en MOD dans les eaux brutes superficielles est également un paramètre de suivi de la qualité de la ressource en eau. En effet, lors de la potabilisation de l'eau, les MOD sont les précurseurs de plusieurs sous-produits de réaction potentiellement dangereux pour la santé lorsque ces eaux sont destinées à la consommation (Doederer et al., 2014; Gonsior et al., 2014). Une détérioration de la qualité de l'eau par l'augmentation des concentrations en MOD des eaux destinées à la consommation est donc susceptible d'augmenter la quantité de sous-produits de réaction, et donc l'exposition des populations à ces polluants.

Les différents exemples de problématiques environnementales présentées précédemment pour lesquelles les MOD occupent une position centrale démontrent l'importance d'une meilleure compréhension de la composition, de la dynamique et du devenir des MOD dans l'environnement.

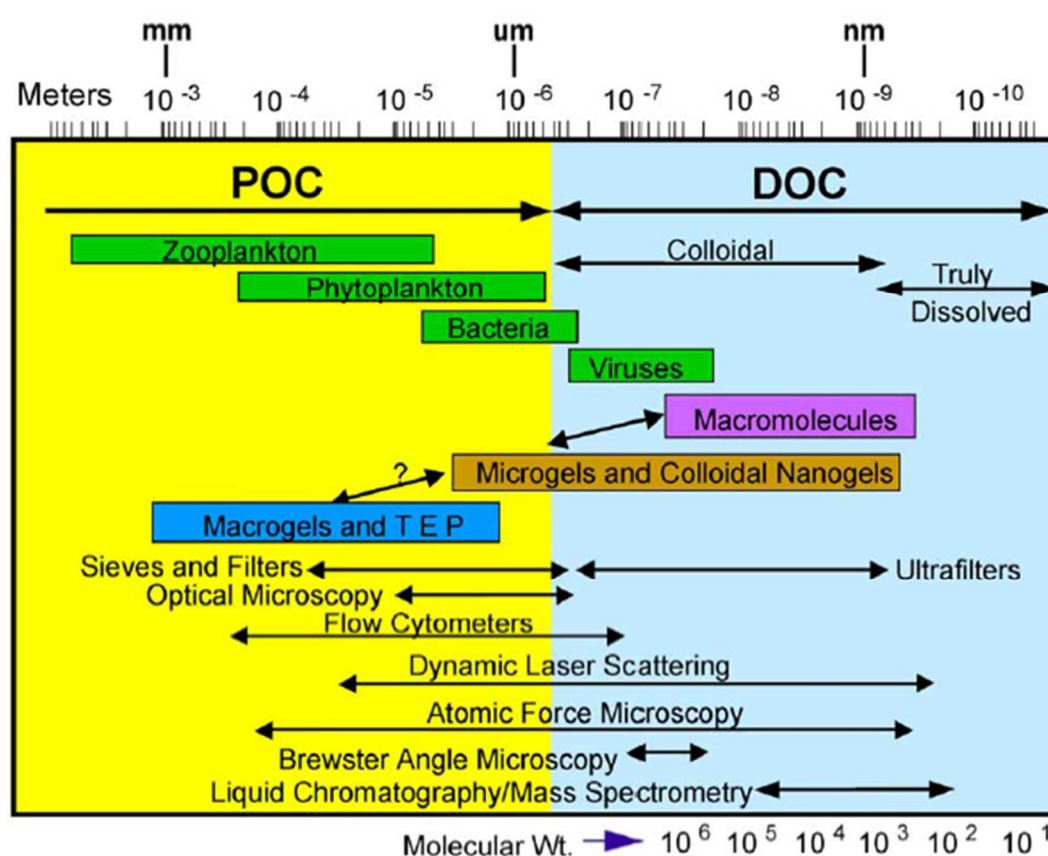


Figure 1-1 : Continuum de taille des matières organiques. D'après Verdugo et al. (2004)

1.2 Définitions

Les MOD constituent un compartiment essentiel du cycle biogéochimique du carbone. Très labiles et réactives, elles constituent un paramètre essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes (Marschner et Kalbitz, 2003; Neff et Asner, 2001). Les MOD sont constituées d'un mélange complexe de plusieurs milliers de molécules caractérisées par des tailles, des origines et des réactivités différentes. Elles résultent de la solubilisation de matières organiques (MO) provenant de diverses sources.

Qu'elles soient obtenues en laboratoire ou collectées sur le terrain, les solutions contenant les MOD contiennent également le plus souvent une fraction de matières organiques particulières (MOP) et colloïdales, nécessitant une étape de filtration au préalable de toute analyse. D'un point de vue opérationnel, les MOD sont alors définies comme l'ensemble des MO présentes en solution après filtration. La porosité des filtres utilisés est la plupart du temps comprise entre 0,2 et 0,7 μm .

D'après le continuum de taille MOP-MOD classiquement décrit dans la littérature scientifique (Azam et Malfatti, 2007; Verdugo et al., 2004), la filtration des échantillons pour ces seuils de coupure permet d'éliminer la MOP mais une fraction de matière organique sous forme colloïdale reste présente dans les échantillons (Figure 1-1). Ce qui est considéré comme MOD est donc en réalité constitué d'une proportion de matières organiques sous forme dissoute et d'une fraction sous forme colloïdale.

1.3 Origine des MOD et facteurs de contrôle

Le long du continuum sol-rivière, les MOD peuvent avoir diverses origines. Elles peuvent venir d'apports naturels et/ou anthropiques, végétaux et/ou microbiens ou encore autochtones et/ou allochtones. L'apport de MOD par la végétation se fait via la production d'exsudats racinaires et la dégradation de résidus végétaux (Kuzakov et Domanski, 2000). Les exsudats sont produits par le système racinaire de la plante et apportent au sol une fraction de MOD labile qui joue un rôle important pour l'activité et la diversité des communautés microbiennes présentes dans la rhizosphère (Chen et al., 2016; Rosenfeld et al., 2014). Quant aux débris végétaux en décomposition, ils constituent une source importante de MOD apportés aux sols par lessivage (Kalbitz et al., 2000; Klotzbücher et al., 2013).

La micro et macrofaune représentent également une source de MOD non négligeable par leurs sécrétions et leur dégradation lors de la mort des organismes. La biomasse microbienne contribue ainsi à la production de MOD par la sécrétion de métabolites. À leur mort, la lyse des cellules bactériennes contribue également à l'apport de MOD aux sols (Kawasaki et Benner, 2006).

Une autre source majeure de MOD est la matière organique du sol (MOS). Les MOD peuvent provenir du lessivage des débris végétaux présents dans les sols. De plus, si les conditions environnementales sont favorables, une fraction de MO précédemment contenue dans le sol, et adsorbée sur les complexes organo-minéraux ou complexée à des oxydes et hydroxydes métalliques (fer, aluminium, manganèse, etc...) peuvent contribuer à l'alimentation du compartiment des MOD (Grybos et al., 2009; Kalbitz et al., 2000; Mikutta et al., 2007). La dégradation des MOS par les microorganismes du sol conduit également à la libération de composés organiques solubles dans la solution de sol (Hagedorn et al., 2004). Il s'agit alors d'une mobilisation biotique. Dans les petits bassins versants de tête, les MOS ont été identifiées comme la source majeure de MOD exportées par les cours d'eau (Aitkenhead et al., 1999).

En contexte agricole, les pratiques culturales appliquées aux sols peuvent également constituer une source complémentaire de MOD (Chantigny, 2003). L'ajout de produits résiduels organiques comme l'épandage d'amendements organiques ou de lisiers participe ainsi à l'alimentation du réservoir de MOD présents dans les sols. La présence de résidus de culture après récolte, qu'ils soient laissés à la surface du sol ou bien enfouis dans les sols est également une source de MOD complémentaires, ces résidus végétaux pouvant être la source de MOD produits par lessivage (Jensen et al., 1997, Chantigny et al., 2002). En modifiant le pH ou la force ionique de la solution de sol, les amendements organiques peuvent également induire une déstabilisation de MOS et stimuler l'activité microbienne (Bol et al., 1999).

Pour l'ensemble de ces voies de production de MOD, plusieurs paramètres abiotiques interviennent et ont pour conséquence de favoriser ou au contraire de limiter la production de ces MOD. Ces paramètres ont un contrôle direct sur les processus physiques ou chimiques et indirect via un contrôle des paramètres biotiques par un impact sur l'activité biologique.

La température a ainsi un contrôle indirect, les faibles températures limitant l'activité bactérienne (Karhu et al., 2014). La force ionique des solutions de sol est également un facteur de contrôle de la solubilisation abiotique de MOD. D'une part, la compétition entre la MOD et les anions peut conduire à la désorption de MOD précédemment adsorbés sur des phases minérales (Kalbitz et al., 2000). D'une autre part, la diminution de la force ionique des

solutions de sol, majoritairement causée par l'apport d'eau de pluie, tend à favoriser la mobilisation de MOD colloïdale (DeNovio et al., 2004; Ryan et al., 1998). Le pH est également un facteur de contrôle important de la solubilisation des MOD. Il agit sur la stabilité des complexes organo-minéraux, l'augmentation du pH conduisant à la désorption de MOD (Kaiser et Zech, 1999).

En conditions naturelles, les changements de concentrations des MOD dans les solutions de sol résultent de l'action combinée de l'ensemble de ces paramètres, rendant parfois difficile la détermination du rôle de chacun d'eux.

1.4 Transport des MOD le long du continuum sol-ruisseau

La dynamique de transport des MOD, depuis leur solubilisation dans les sols et jusqu'à leur transfert vers les milieux aquatiques est contrôlée par les conditions hydrologiques. En effet, les MOD nécessitent la présence et le mouvement d'une phase liquide, ici la phase aqueuse présente dans les sols, pour se déplacer et atteindre les milieux aquatiques. La dynamique de nappe et l'établissement de connexions hydrologiques, ont donc un rôle prépondérant dans le transport des MOD (Covino, 2017). Ces paramètres hydrologiques sont fortement dépendants du climat et du type de sol. Du climat va dépendre le régime de précipitations apportées au système mais également la perte par évaporation et évapotranspiration. Les sols quant à eux ont une incidence sur la capacité de rétention et de circulation de l'eau. Appréhender les mouvements de la phase aqueuse dans les sols est complexe, les mouvements d'eau pouvant avoir lieu dans les trois dimensions de l'espace.

1.4.1 Transfert vertical en milieu insaturé

Dans la partie insaturée des sols, les connaissances actuelles sur la dynamique des MOD ont conduit au modèle de circulation verticale de la MOD proposé par Kaiser et Kalbitz (2012) (Figure 1-2).

Du fait de l'insaturation des sols, la circulation de la solution de sol se fait verticalement. L'eau est principalement apportée par les précipitations en surface et va progressivement percoler à travers les différents horizons du sol jusqu'à atteindre la nappe située en profondeur. Dans l'horizon superficiel du sol, la solution de sol vient lessiver la litière et l'horizon superficiel riche en MOS. La solution de sol se charge donc de MOD essentiellement composée de molécules d'origine végétale (Guggenberger et Zech, 1994;

Kaiser et al., 2004; McDowell et Likens, 1988). Au cours de la percolation progressive de la solution de sol vers les horizons profonds, les MOD peuvent subir plusieurs cycles d'absorption puis désorption sur les phases minérales et les oxydes et hydroxydes métalliques. Ces différentes phases de sorption et désorption peuvent être liées à un changement des conditions physico-chimiques de leur environnement et induisent un changement de composition progressif de la MOD avec la profondeur, les composés hydrophobes étant préférentiellement adsorbés tandis que les composés hydrophiles ont tendance à rester en solution (Hernes et al., 2007; Sanderman et al., 2008). Bien que moins accessibles aux microorganismes, les MOD adsorbées sont exposées à la dégradation par les communautés microbiennes du sol (Tipping et al., 2012), tout comme les MOD en circulation dans la solution de sol. L'action de ces microorganismes résulte en une minéralisation et une modification de la composition chimique des MOD le long du profil de sol.

Du fait de l'ensemble de ces interactions, on observe avec la profondeur une diminution de la concentration en carbone organique dissout (COD) (Sanderman et al., 2008) ainsi que l'augmentation de la proportion de MOD d'origine microbienne. La MOD présente dans les horizons profonds résulte donc de la transformation progressive des MOD du fait de la sorption et de la dégradation des MOD provenant de la litière et de l'horizon de surface.

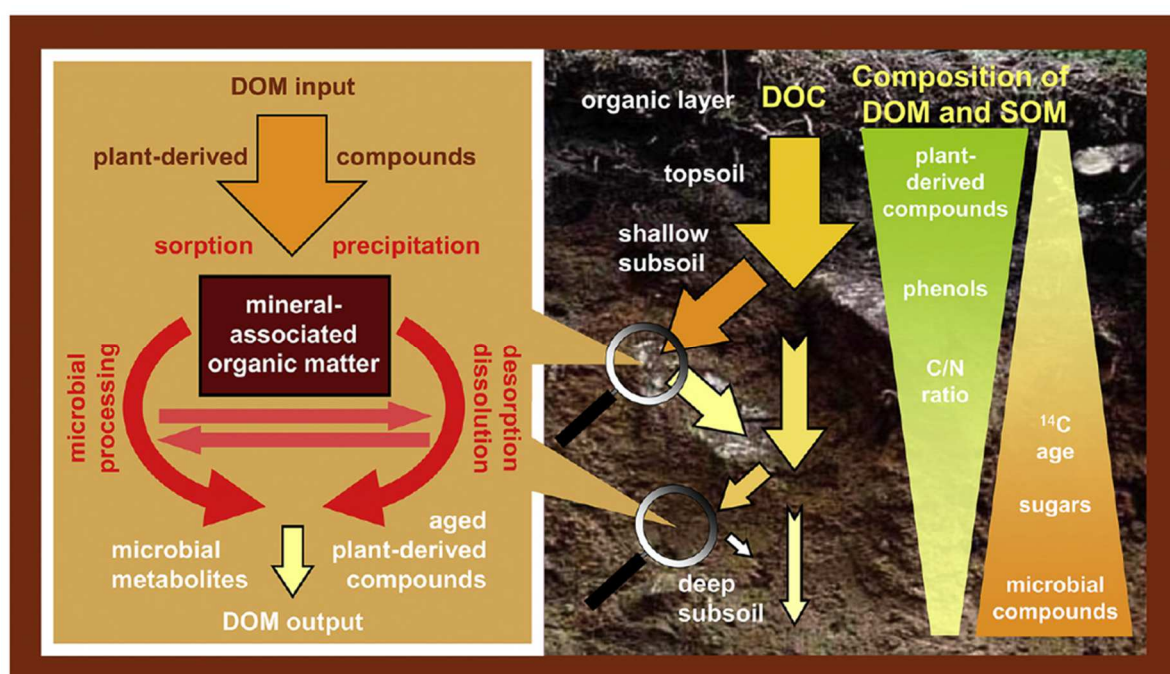


Figure 1-2 : Représentation schématisée du modèle conceptuel de circulation verticale de la MOD des sols proposé par Kaiser et Kalbitz (2012).

1.4.2 Transfert le long de la porosité

Dans les sols, l'eau circule le long de la porosité, structurée par la connexion de pores de diamètres variables, allant des diamètres les plus fins (nano et microporosité) jusqu'aux diamètres les plus importants (macroporosité). La structuration de ce réseau de pores fait l'objet de nombreuses études, et est notamment étudié pour son impact sur les transports de solutés tels que les nutriments et les MOD depuis les sols jusqu'aux réseaux hydrographiques (Jarvis, 2007; Smucker et al., 2007).

Les travaux de Worrall et al., (2008) ont conduit à formaliser un concept de production et de transport des MOD le long de la porosité des sols, à partir de nombreux travaux traitant de cette problématique (Figure 1-3). Dans les nanopores et micropores présents dans les agrégats qui constituent le sol (Peth et al., 2006), la MOD est produite par solubilisation biotique et abiotique. Le diamètre de ces pores ne permet pas le mouvement de l'eau qui y est présente. Les MOD sont toutefois mobiles dans ces pores et peuvent migrer vers les pores de plus gros diamètre par diffusion. Ce transfert diffusif des MOD vers les pores de diamètres plus importants est gouverné par la différence de concentration entre ces pores, la diffusion se

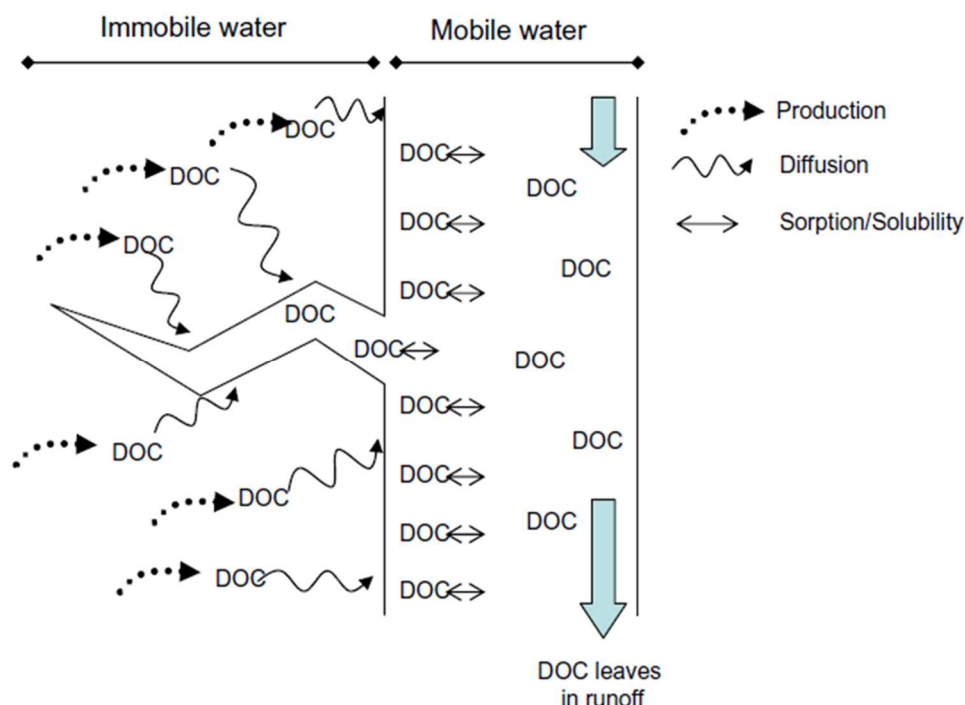


Figure 1-3 : Représentation schématisée du concept de production et de transport de MOD dans les sols le long de la porosité d'après Worrall et al., (2008)

faisant du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré. Au cours de ce transport, les MOD, en fonction de leur disponibilité vis-à-vis des microorganismes (Dungait et al., 2012), pourront être dégradées et minéralisées. Ces MOD pourront également être stabilisées par adsorption sur des surfaces minérales ou complexation avec des oxydes et hydroxydes métalliques (Kalbitz et al., 2000). Lorsque ces MOD atteignent les parois des macropores dans lesquels la circulation de l'eau est possible, celles-ci ont la possibilité d'être transportées le long de la macroporosité jusqu'à atteindre la nappe souterraine ou le réseau hydrographique. Ces MOD peuvent également être à nouveau stabilisés sur les parois des macropores.

Dans le cas de sols insaturés, ce modèle conceptuel est une vision complémentaire du concept proposé par Kaiser et Kalbitz, (2012). Lorsque la macroporosité est remplie d'air, la diffusion depuis les nanopores et micropores n'est plus possible. Il y a alors accumulation des MOD. Lors du remplissage des macropores à l'occasion de précipitations, la diffusion est alors possible. La circulation verticale de l'eau macroporale permet alors la migration des MOD le long du profil de sol. Les nombreuses interactions des MOD avec le sol et les microorganismes étant responsables de l'évolution de la concentration et de la composition des MOD.

Dans le cas de sols saturés, la diffusion peut continuellement avoir lieu entre la microporosité et la macroporosité. La solubilisation de MOD dans la nanoporosité et microporosité venant continuellement alimenter le processus de diffusion. La quantité de MOD transportée étant limitée par la diffusion et non par la production (Worrall et al., 2008). La circulation se faisant horizontalement dans les sols saturés sur de longues périodes, l'évolution le long du profil de sol peut être différente de celle observée pour des sols insaturés.

Appréhender la dynamique des MOD par des sites de solubilisation puis un transport vers des voies de diffusion permet de mettre en avant l'importance de la dynamique de circulation de l'eau dans les sols. Comparé à de précédents modèles faisant état de la constitution de réservoirs de MOD pouvant être mobilisés en fonction de leur degré plus ou moins élevé de disponibilité (Futter et al., 2007; Michalzik et al., 2003), ce modèle permet de tenir compte du flux d'eau dans les macropores, et ainsi intégrer la variabilité des conditions hydrologiques au cours de l'année, et en particulier pendant les évènements de crue.

2. Dynamique de transfert des MOD à l'échelle du bassin versant

2.1 Contexte d'étude : le bassin versant

Le bassin versant est une unité géographique qui collecte les eaux de surface pour les transférer, via le réseau hydrographique, jusqu'à l'exutoire. Les eaux de rivière qui arrivent à l'exutoire du bassin versant résultent du mélange entre les écoulements de surface, de subsurface et souterrains. Les MOD contenues dans les eaux de rivière à l'exutoire du bassin versant proviennent donc essentiellement de l'ensemble des écoulements de surface et de subsurface, les écoulements souterrains contenant de faibles concentrations en MOD, souvent inférieures à 1 ou 2 mg/L (Billett et al., 2006). La position de l'exutoire le long du cours d'eau principal va conditionner la surface de drainage du bassin versant.

Dans le cadre de l'étude des MOD, un grand nombre d'études sont conduites sur des bassins versants de petite taille, situés en haut des réseaux hydrographiques et appelés bassins versants de tête. L'étude de bassins versants caractérisés par une large gamme de superficies réalisée par (Ågren et al., 2007) a permis de mettre en évidence la relation entre la surface du bassin versant et la quantité de COD exporté par unité de surface (Figure 1-4). Au vue de ces résultats, il apparaît donc que les bassins versants de faible superficie exportent une plus grande quantité de COD par unité de surface. Cette caractéristique fait donc de ces petits bassins versants de tête un objet d'étude particulièrement adapté pour la compréhension des flux de MOD.

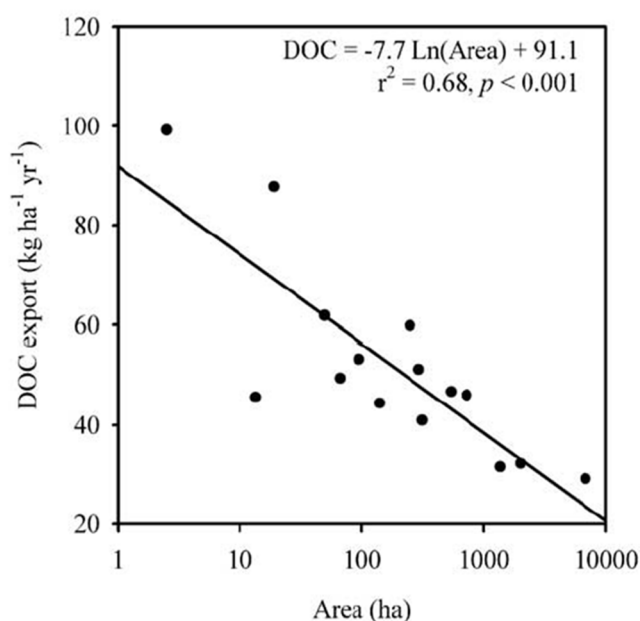


Figure 1-4 : Relation observée entre la quantité de COD exporté par unité de surface et la superficie du bassin versant. (Ågren et al. 2007)

Dans ces bassins versants, les zones humides ripariennes occupent une place prépondérante. Les fortes concentrations en MO dans les sols de ces zones humides en font une source majeure de MOD, en particulier dans ces bassins versants de tête où le lien sol rivière établi par la nappe est un facteur majeur de contrôle de la qualité de l'eau (Aitkenhead et al., 1999; Lambert et al., 2011; Morel et al., 2009; Schiff et al., 1998).

2.2 Transferts de MOD à l'échelle du bassin versant

2.2.1 Variation saisonnière de transfert à l'échelle du versant

Connectivité hydrologique et dynamique de nappe

Au cours de l'année hydrologique, les transferts de MOD à l'échelle d'un versant sont sujets à des variations saisonnières. Celles-ci sont principalement causées par l'établissement intermittent de connexions hydrologiques entre les différentes zones du versant et la rivière (Bracken et al., 2013). Comprendre le fonctionnement de ces connexions hydrologiques est donc essentiel pour la compréhension des dynamiques de transfert de MOD à l'échelle du versant (Covino, 2017).

La dynamique de nappe dans le versant est un paramètre essentiel dans le contrôle de l'établissement de la connectivité hydrologique. Son évolution au cours de l'année hydrologique permettant de connecter des zones différentes du versant à la rivière (Ambroise, 2004). Elle dépend du volume d'eau apporté par les précipitations et la fonte de neige (le cas échéant), et de la perte en eau par infiltration et évapotranspiration. Elle dépend également de la capacité du versant à transférer rapidement ou lentement l'eau jusqu'à la rivière. La topographie du versant est également un paramètre de contrôle de la dynamique de nappe (Detty et McGuire, 2010; Jencso et McGlynn, 2011).

En périodes sèches, pendant l'été et à l'automne, seule une zone de superficie réduite du versant est connectée à la rivière et contribue aux flux de MOD et de nutriments. Il s'agit de la zone la plus proche du cours d'eau (Jencso et al., 2009; Nippgen et al., 2015). On distingue cependant des cours d'eaux dont l'écoulement est interrompu en période estivale. Dans ce cas, la totalité du bassin versant est déconnectée pendant cette période de l'année. En fonction des conditions hydrologiques et de la topographie du terrain, la dynamique de nappe permet de connecter une plus grande surface du versant à la rivière pendant la saison humide. Certaines parties des versants ne sont parfois jamais connectées au cours de l'année

hydrologique, seule l'occurrence d'un évènement intense de précipitations permettant de les connecter à la rivière (Nippgen et al., 2015).

Dynamique de transfert des MOD sur le versant

A l'exutoire des bassins versants, la concentration en COD de la rivière diminue progressivement au cours de l'année. Cette évolution se répète d'une année à l'autre (Humbert et al., 2015). Deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer cette évolution (i) un réservoir de MOD de taille limitée situé dans les zones humides qui s'épuise progressivement au cours de l'année hydrologique (ii) un réservoir de MOD de taille illimitée dans les zones humides ripariennes et un réservoir de taille limitée dans les versants qui contribue aux concentrations plus élevées observées en début d'année hydrologique lorsque les horizons organiques des sols de versants sont hydrologiquement connectés à la rivière par la montée de la nappe, et qui s'épuise progressivement. Les études menées à ce sujet ces dernières années sont cohérentes avec la deuxième hypothèse (Humbert et al., 2015 ; Lambert et al., 201 ; Morel et al., 2009 ; Sanderman et al., 2009).

Alors que les horizons organiques des sols de zones ripariennes sont connectés à la rivière par la nappe pendant de longues périodes et contribuent largement au flux de MOD à la rivière dans les petits bassins versants de tête (McGlynn et McDonnell, 2003; Mei et al., 2012), les horizons organiques des sols de haut de versants sont connectés à la rivière de manière occasionnelle et contribuent au flux de MOD à la rivière de manière ponctuelle. A l'échelle du versant, de nombreuses études se sont intéressées au transfert de ces MOD de haut de versant et à leur contribution aux MOD exportées à la rivière.

Afin de tracer les flux d'eaux et donc de MOD à travers le versant et jusqu'à la rivière, les traceurs utilisés doivent permettre de différencier la contribution du versant de la contribution des zones ripariennes. Une différence de conductivité (Jencso et al., 2010) ou encore de concentration en Ca^{2+} (Pacific et al., 2010) ont ainsi permis de tracer le transfert de masses d'eau contenant des MOD des hauts de versant vers les zones ripariennes puis la rivière.

Dans le cas de bassins versants dont la dynamique de nappe, en lien avec le régime de précipitations, connecte ponctuellement les zones de hauts de versants, un modèle conceptuel d'export des MOD à l'échelle du versant a pu être proposé. Le transport des MOD à l'échelle du versant a ainsi été interprété comme le mouvement de masses d'eau contenant les MOD et

nutriments du haut de versant vers le bas de versant. L'arrivée de la masse d'eau de versant dans la zone riparienne conduisant à un mélange entre ces deux masses d'eau qui sont ensuite transférées à la rivière (Lambert et al., 2014) (Figure 1-5). Les vitesses de transport depuis les hauts de versants jusqu'aux zones ripariennes pourront être variables d'un bassin versant à un autre. Ce temps de transport est dépendant de la distance qui sépare ces deux zones du versant, mais également de la vitesse de circulation de l'eau dans le versant. Le réservoir de MOD présent dans les hauts de versant est considéré comme pouvant avoir une taille limitée (Pacific et al., 2010; Sanderman et al., 2009), contrairement aux zones de bas de versant qui auraient un réservoir illimité de MOD. Il serait ainsi possible d'observer un épuisement du réservoir de versant. Sa vitesse d'épuisement serait variable d'un bassin versant à un autre du fait de la variabilité de la taille du réservoir qui est en partie conditionnée par la superficie de la zone d'accumulation. Il serait également possible d'observer une variabilité de la vitesse d'épuisement d'une année à l'autre pour un même bassin versant. Dans ce cas, la vitesse d'épuisement sera dépendante de l'établissement de la connexion hydrologique. La mise en place d'une connexion hydrologique pérenne pourrait permettre une vidange rapide du réservoir de versant tandis que la mise en place d'une connexion hydrologique intermittente sera responsable d'un épuisement progressif du réservoir de versant.

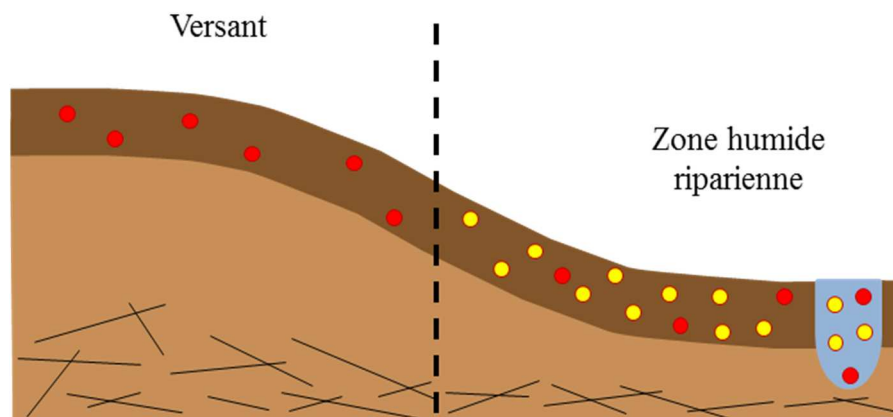


Figure 1-5 : Schéma conceptuel du transfert de MOD depuis les hauts de versants vers les zones ripariennes. Lors de l'établissement de la connexion hydrologique, la MOD de versant est transportée le long du versant pour atteindre la rivière. Dans les sols de bas de versant on observe alors un mélange entre de la MOD de la zone riparienne (ronds jaunes) et de la MOD provenant du haut de versant (ronds rouges).

Cas du bassin versant de Kervidy-Naizin

Sur le bassin versant de Kervidy-Naizin sur lequel s'appuient ces travaux de thèse, Lambert et al., (2014) ont fait l'hypothèse de ce transfert de versant en se basant sur les changements de signature isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) des MOD à l'exutoire du bassin versant pendant des crues et l'hétérogénéité du $\delta^{13}\text{C}$ des MOS le long du versant (Figure 1-6a). Le suivi des solutions de sol au cours de l'année hydrologique a permis de mettre en évidence l'augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ dans l'horizon profond en début de période B au moment de l'établissement d'une connexion hydrologique entre le haut de versant et la rivière (Figure 1-6b). Ces observations ont été interprétées comme le transfert de MOD depuis le haut de versant jusqu'à la zone humide puis à la rivière, et le mélange entre les deux masses d'eau (Figure 1-5). La diminution progressive du $\delta^{13}\text{C}$ au cours de la période B pour retourner progressivement à la signature isotopique de la zone humide a quant à elle été interprétée comme l'épuisement progressif du stock de versant.

2.2.2 Dynamique de transfert à l'échelle de l'évènement de crue

Les périodes de crues sont des périodes spécifiques dans l'année hydrologique qui impactent fortement le transfert des MOD. En effet, plus de 60% des MOD exportées annuellement par les petits bassins versants de tête le sont pendant les évènements de crues (Buffam et al., 2001; Morel et al., 2009; Raymond et Sayers, 2010).

Ils sont caractérisés par une augmentation de la concentration en COD dans les rivières à l'exutoire des bassins versants, lors de l'augmentation du débit (Boyer et al., 1997; Buffam et al., 2001; Hinton et al., 1998). Cette augmentation a été attribuée à la modification de la circulation de l'eau dans les sols du bassin versant. En effet, pendant les crues, l'augmentation du niveau de la nappe permet de connecter une plus grande surface du bassin versant comparé aux périodes hors crue, et plus particulièrement les zones humides ripariennes. Dans ces sols saturés, la circulation de l'eau se fait horizontalement. Pendant les crues on observe une circulation préférentielle de l'eau dans l'horizon de surface riche en MO et caractérisé par une conductivité hydraulique plus importante (Boyer et al., 1996; Lambert et al., 2011; McGlynn et McDonnell, 2003; Seibert et al., 2009). De ce fait la contribution des zones humides au flux de MOD à l'exutoire du bassin versant augmente, conduisant à l'augmentation de la concentration en COD (Hagedorn et al., 2000; Lambert et al., 2011).

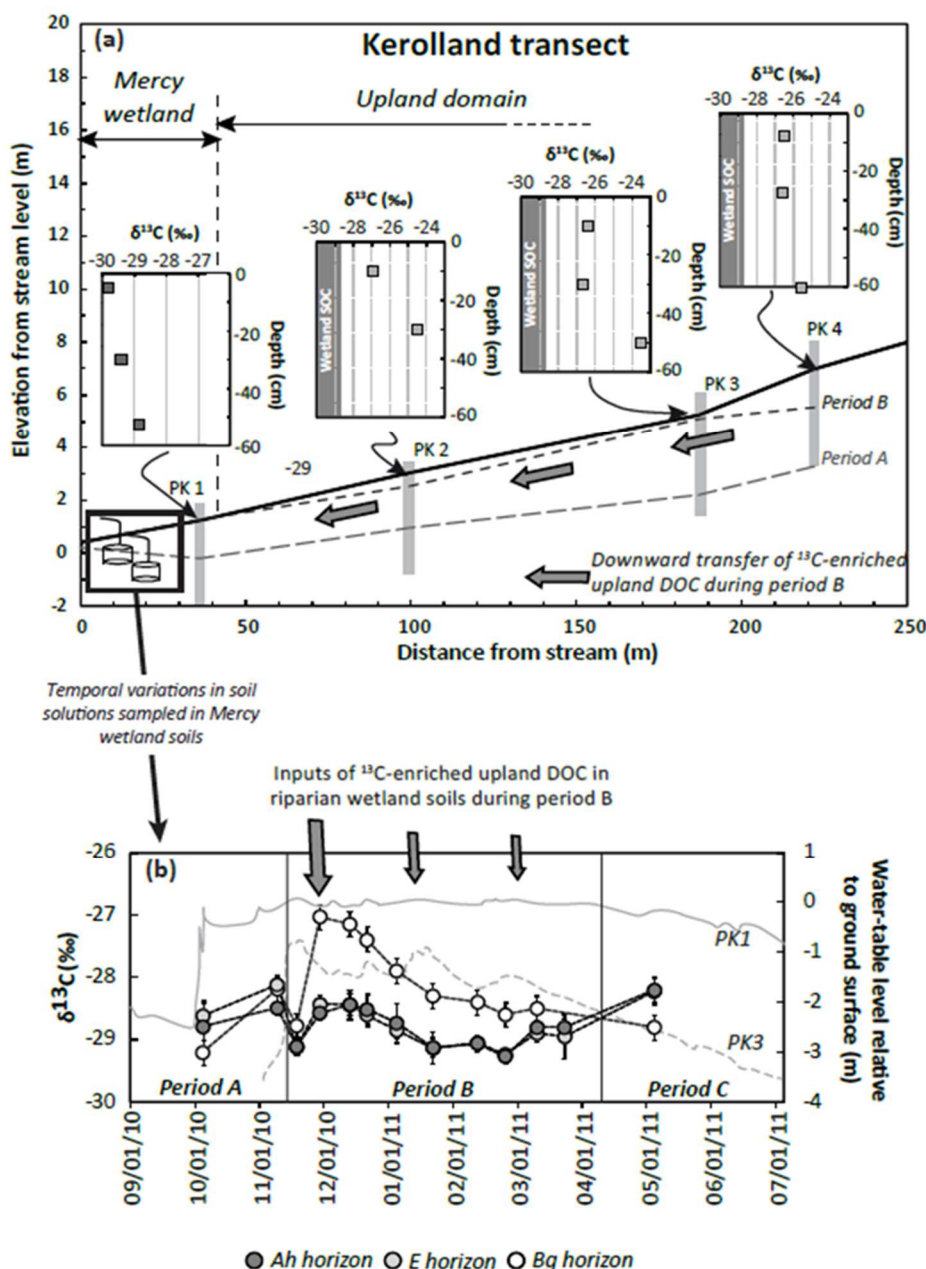


Figure 1-6 : Schéma représentant le transfert de versant sur le bassin versant de Kervidy-Naizin d'après Lambert et al. (2014). La période A correspond à la période de réhumectation des sols à l'automne. La période B correspond à la période hivernale de saturation des sols pendant laquelle les sols de hauts de versant sont hydrologiquement connectés à la rivière. La période C correspond à la période de désaturation des sols qui a lieu au printemps.

Le cadre (a) correspond au contexte dans lequel l'outil isotopique a été utilisé. Le schéma représente le transect étudié, la dynamique de nappe au cours des périodes A et B ainsi que la signature isotopique du carbone organique du sol ($\delta^{13}\text{C}$) des différents horizons de sol le long du transect.

Le cadre (b) représente l'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ des MOD contenues dans les solutions de sol collectées dans les différents horizons de sol de la zone humide.

Par la caractérisation moléculaire des MOD et plus particulièrement des lignines, prélevés à l'exutoire de bassins versants, Dalzell et al. (2005), Hernes et al. (2008) et Ward et al. (2012) ont mis en évidence une modification de la composition moléculaire de la MOD au moment des crues. Les MOD exportées pendant ces crues étant caractérisées par une biodégradation moins avancée, identifiée par des valeurs de rapport C/V élevées (Figure 1-7). Ces modifications ont été attribuées à un processus d'équilibre chimique qui intervient dans le cours d'eau. L'augmentation du débit et la mise en place de ruissellement de surface induisent de l'érosion au niveau des berges et à la surface des sols, conduisant ainsi à l'apport de MOP dans le cours d'eau. De la MOD est ainsi produite par équilibre chimique entre la MOP et la phase aqueuse. Ce processus a été identifié comme responsable de la modification de composition moléculaire observée dans les cours d'eau pendant les crues (Hernes et al., 2008). La corrélation observée par Jeanneau et al. (2015) lors de la phase ascendante de la crue entre la composition moléculaire de la MOD à l'exutoire et la turbidité tend à confirmer cette hypothèse, les valeurs de C/V les plus élevées étant observées lorsque la turbidité est la plus importante. Cette corrélation n'est pourtant plus observée si on considère la totalité de la crue, c'est-à-dire la phase ascendante de la crue et le retour vers des débits observés en conditions hors crue (Figure 1-8). Alors que la turbidité diminue lors du retour du débit à des conditions hors crue, les valeurs du rapport C/V restent élevées. Ces observations ont conduit à faire l'hypothèse de la mise en place de processus complémentaires permettant de continuer à observer une MOD peu biodégradée alors que le débit et la turbidité à l'exutoire du bassin versant sont revenus à une situation hors crue.

L'hypothèse proposée par Jeanneau et al. (2015), implique la mise en place d'érosion des parois des macropores dans le profil de sol, en lien avec l'augmentation de la vitesse de circulation de l'eau à l'intérieur des macropores. En effet, l'augmentation du gradient hydraulique pendant les crues conduit à l'augmentation de la pression et de la vitesse de circulation de l'eau dans la macroporosité des sols. Ces conditions particulières de circulation ont été identifiées comme étant responsables de la déstabilisation de colloïdes et de particules de sols (DeNovio et al., 2004; Majdalani et al., 2008). Les MOS, moins exposées à la biodégradation, sont caractérisées par des valeurs de rapport C/V élevées. Cette hypothèse pourrait donc expliquer les modifications de compositions moléculaires observées par Dalzell et al. (2005), Hernes et al. (2008), Ward et al. (2012) et Jeanneau et al. (2015).

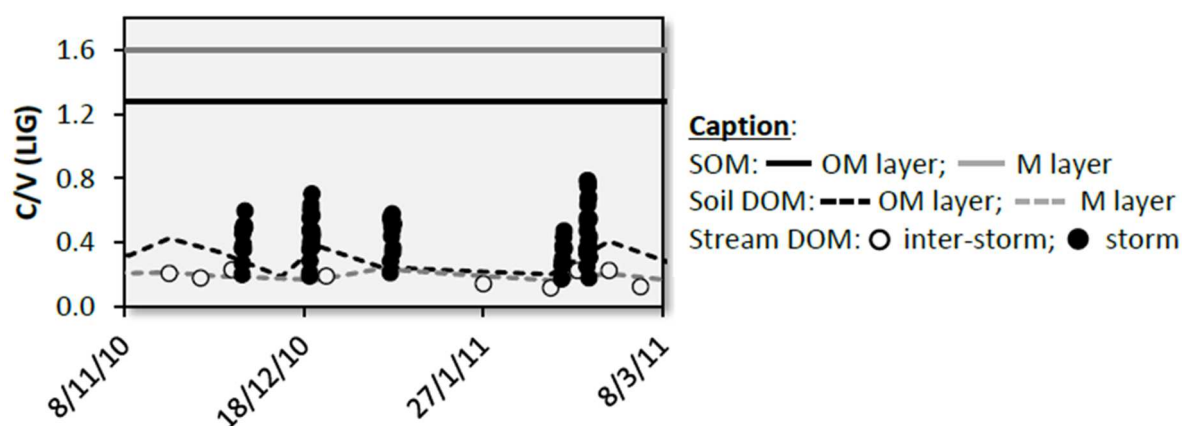
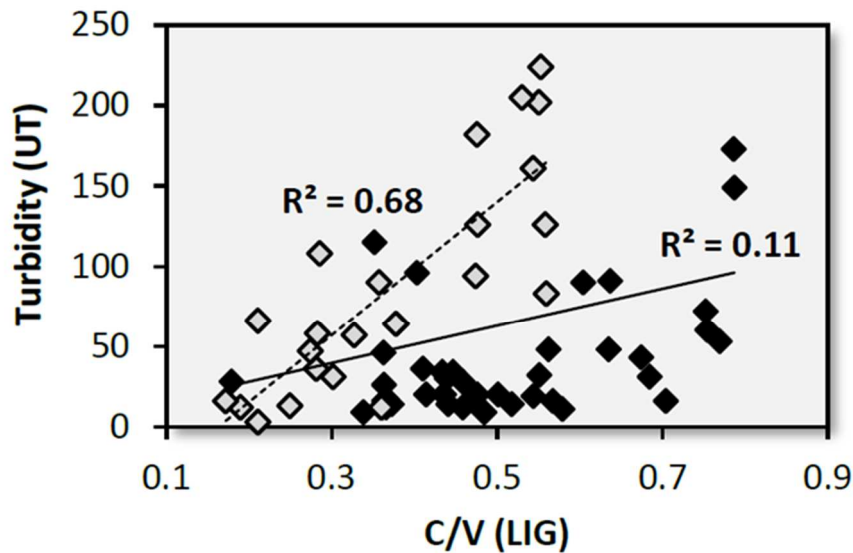


Figure 1-7 : Composition moléculaire de la MOD à l'exutoire du bassin versant de Kervidy Naizin en période hors crue et en crue, et comparaison avec les MOD de solutions de sol en période hors crue et avec la MOS. Le rapport C/V est un ratio moléculaire de la lignine. L'augmentation de ce ratio peut être interprétée comme une diminution de l'état de biodégradation des MOD. OM layer = horizon organique ; M layer = horizon minéral. D'après Jeanneau et al. (2015).



Caption:

◇ Rising limb ◆ Entire event

Figure 1-8 : Relation entre le rapport C/V et la turbidité pendant plusieurs crues, pour la phase ascendante de la crue (losanges gris) et la totalité de la crue (losanges noirs). D'après Jeanneau et al. (2015).

3. Etude de la composition moléculaire des MOD

3.1 Développement des méthodes d'analyse moléculaires

La pyrolyse analytique a été largement développée pour l'analyse des matières organiques naturelles (MON) (Leinweber et Schulten, 1999; Schulten et Gleixner, 1999). Cette technique d'analyse comporte cependant plusieurs difficultés pour l'interprétation des données obtenues lors de la pyrolyse de macromolécules (Kögel-Knabner, 2000). L'occurrence de réactions secondaires lors de la pyrolyse des MO peut être responsable de la modification des composés originels et ainsi conduire à un biais dans les résultats (Saiz-Jimenez, 1994). De plus, la présence d'argiles dans les échantillons induit une recombinaison entre les argiles et les molécules produites lors de la pyrolyse, conduisant à des biais analytiques (Faure et al., 2006).

Afin de contourner ces problèmes analytiques, la technique d'hydrolyse et méthylation assistée par la température, couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse (HMT-CPG-SM)¹, a été développée et est actuellement largement utilisée pour l'étude des MON (Challinor, 2001). Cette technique combine une réaction d'hydrolyse basique à une dérivatisation des groupements réactifs. Elle permet de limiter la réactivité des produits de l'hydrolyse basique et de conserver des molécules proches de ce qu'elles étaient dans l'échantillon analysé. Cette réaction qui consiste en une lyse chimique catalysée par la température porte aussi le nom de thermochimiolyse. En protégeant les fonctions alcools, acides carboxyliques et amines sous forme d'éthers et d'alkylamines, cette procédure permet de diminuer les interactions avec la colonne chromatographique et de rendre les composés plus volatils pour la séparation par chromatographie en phase gazeuse. Plusieurs agents dérivatifs ont ainsi été utilisés comme l'hydroxyde de triméthylsulfonium (Estévez et Helleur, 2005) ou l'hydroxyde de tétrabutylammonium (Lehtonen et al., 2003). Cependant, l'agent de dérivatisation le plus largement utilisé reste l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) qui est utilisé dans plus de 90% des études publiées utilisant la thermochimiolyse (Shadkani et Helleur, 2010). L'utilisation du TMAH permet d'éviter la décarboxylation des acides et la déshydratation des groupements alcools (Grasset et al., 2009) qui mènent à une perte d'information sur la structure des macromolécules sources.

¹ Les chapitres 3 et 4 étant rédigés en anglais, cet acronyme sera remplacé par THM-GC-MS pour thermally assisted hydrolysis and methylation - gas chromatography- mass spectrometry.

3.2 Utilisation des biomarqueurs moléculaires dans l'étude des MOD

3.2.1 La notion de biomarqueurs moléculaires

Tous les organismes vivants, (plantes, animaux, bactéries, champignons...) sont constitués de biomolécules et biomacromolécules. Lors de la mort de ces organismes, ou via leurs sécrétions, celles-ci sont libérées dans l'environnement. Ces biomolécules peuvent alors être utilisées par les organismes environnants ou bien stockées et venir alimenter le réservoir des matières organiques.

L'étude de ces biomolécules depuis de nombreuses années par les géochimistes organiciens a permis d'identifier certaines d'entre elles comme pouvant être reliées à une source spécifique. Ces biomolécules appelées biomarqueurs sont utilisées dans de nombreux domaines : archéologie, pétrochimie, chimie environnementale... Pour que les biomolécules puissent être utilisées comme biomarqueurs, celles-ci doivent respecter plusieurs critères (Eganhouse, 1997). Le premier concerne la spécificité de la source de la biomolécule. Une molécule organique pourra être utilisée comme un biomarqueur s'il existe un lien unique qui la relie à sa source. Dans la majorité des cas, cette condition est respectée à des degrés différents en fonction de la voie de synthèse de la molécule. Le deuxième concerne la conservation de la biomolécule, celle-ci devant être résistante à la dégradation. Cette condition n'est toutefois jamais remplie du fait de l'interaction de ces molécules avec leur environnement, ce qui induit des modifications de leurs structures. Il est toutefois nécessaire que leur nature soit toujours identifiable même après dégradation partielle.

3.2.2 Utilisation des principaux biomarqueurs

Dans le cadre de l'étude des sources et de la dynamique des matières organiques naturelles, les biomarqueurs provenant de trois grandes familles de biomolécules sont très répandues (lignines et tannins, polysaccharides et acides gras). L'utilisation conjointe de ces différentes familles permet d'apporter un grand nombre d'informations concernant l'origine, les caractéristiques et le potentiel devenir de ces matières organiques lors de leurs transferts. Les principales informations qui peuvent être obtenues par leur utilisation sont l'identification de leur origine, par la distinction des sources végétales et des sources microbiennes ou encore des indications concernant leur état de biodégradation.

Les paragraphes suivants ont pour but d'identifier les différentes biomolécules pouvant être utilisées comme biomarqueurs et la manière dont les résultats peuvent être utilisés et comment interpréter l'information ainsi apportée.

3.2.2.1 Les phénols : lignines et tannins

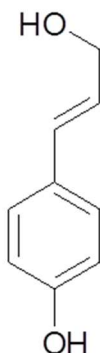
Origine, structure et propriété

Les lignines sont des macromolécules polyphénoliques à haut poids moléculaires qui sont présentes dans la paroi cellulaire des plantes ligneuses et herbacées, contrairement aux mousses et aux algues qui n'en contiennent pas. Elles sont également absentes de la structure des microorganismes (Higuchi, 1990). Après la cellulose, la lignine est le deuxième biopolymère le plus abondant dans la biosphère et représente une large proportion de la biomasse terrestre. Au sein de la plante, elle assure plusieurs fonctions (Boerjan et al., 2003; Laurichesse et Avérous, 2014) :

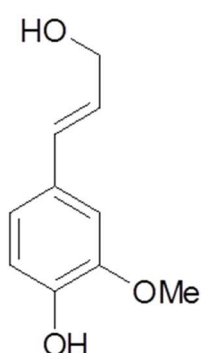
- en s'associant aux hémicelluloses, elle contribue à la rigidité de la paroi cellulaire
- en inhibant la dégradation enzymatique d'autres composants, elle protège ainsi les végétaux des agents pathogènes
- en contribuant à l'imperméabilité de la plante, elle permet la circulation des fluides dans leur système vasculaire

Les macromolécules de lignine résultent de la condensation de plusieurs monomères. Les trois principaux précurseurs (monolignols) de ces monomères sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique (Adler, 1977) représentés Figure 1-9. L'alcool coumarylique est le précurseur des unités p-hydroxyphényle (unités C), l'alcool coniférylique est le précurseur des unités vanillyle (unités V) et l'alcool sinapylique est le précurseur des unités syringyle (unités S). L'assemblage des différentes unités permettant la structuration de ces macromolécules se fait grâce à différentes liaisons illustrées sur la Figure 1-10. Parmi celles-ci, environ 50% sont de type arylglycerol- β -arylether (β -O-4) ce qui en fait la liaison majoritaire (Adler, 1977; Boerjan et al., 2003).

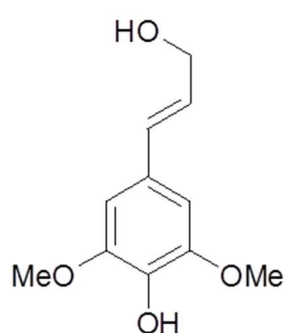
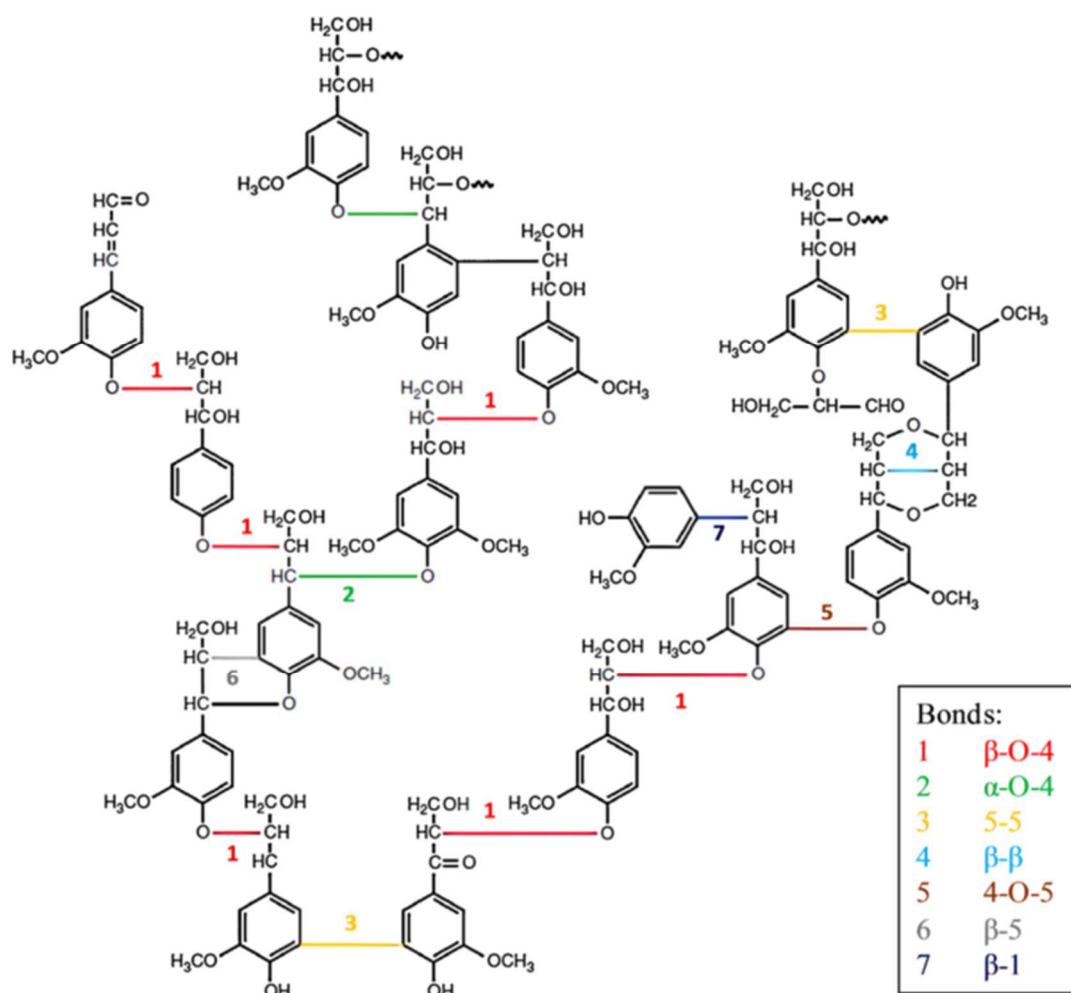
alcool coumarylique



alcool coniférylique



alcool sinapylique

**Figure 1-9** : Structure des trois principaux précurseurs de la lignine (Me = CH₃)**Figure 1-10** : Exemple de représentation d'une macromolécule de lignine et identification des liaisons responsables de l'assemblage des différentes unités (Laurichesse et Avérous, 2014)

Les tannins sont des macromolécules polyphénoliques hydrosolubles possédant la capacité de précipiter les protéines. On distingue deux classes de tannins : les tanins condensés et les tannins hydrolysables (Figure 1-11).

Les tannins condensés sont des polyphénols constitués de plusieurs unités poly-hydroxy-flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons C-C. Les tannins hydrolysables sont constitués d'acides phénoliques et de sucre, généralement le glucose. On distingue deux catégories de tannins hydrolysables : les gallotannins dont l'unité phénolique de base est l'acide gallique et les ellagitannins dont l'unité phénolique de base est l'acide ellagique (Killops et Killops, 2005; Kraus et al., 2003). Ces tannins, synthétisés par les végétaux supérieurs sont présents en quantités plus importantes que les lignines dans certaines parties de la plante comme les feuilles ou l'écorce. De nombreuses études se sont intéressées au rôle des tannins dans les processus écologiques et environnementaux. Ainsi, plusieurs études suggèrent l'implication des tannins dans l'inhibition de l'activité microbienne (Scalbert, 1991) ou dans la protection des plantes contre le rayonnement solaire par son action antioxydante (Close et McArthur, 2002).

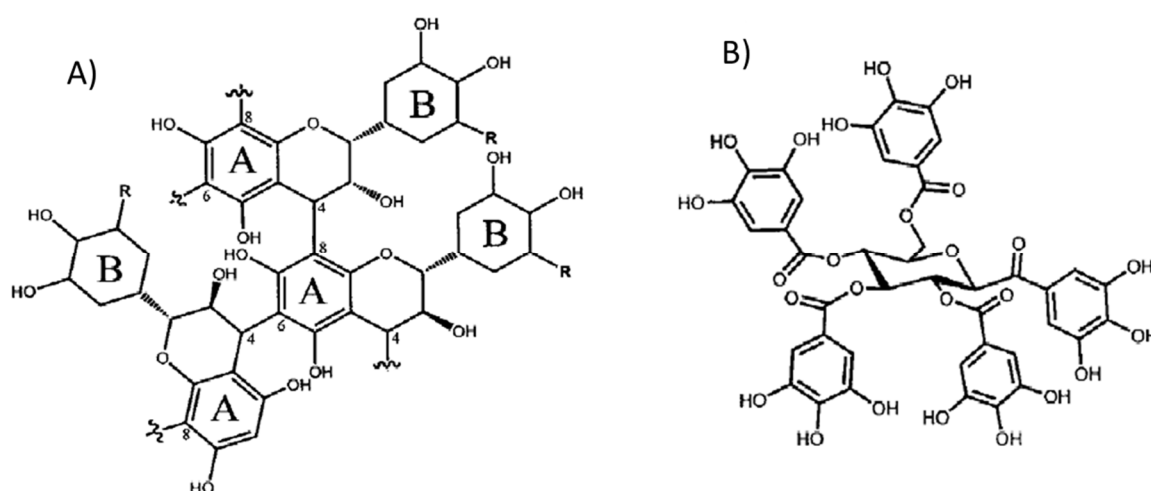


Figure 1-11 : Structure des tannins. A) exemple d'un tannin condensé, B) exemple d'un tannin hydrolysable, ici un gallotannin. D'après Kraus et al. (2003)

Réaction par thermochimiolyse

Au cours de la thermochimiolyse en présence de TMAH, il y a coupure des liaisons responsables de la structuration des macromolécules de lignines et de tannins. La coupure de

ces liaisons va conduire à la formation de phénols, présents sous forme méthylée. Les différents types de liaisons conduisant à la formation d'une grande diversité de phénols (Kuroda et Nakagawa-izumi, 2006; Nakagawa-izumi et al., 2004). Un exemple de coupure d'une liaison β -O-4 d'une macromolécule de lignine est illustré Figure 1-12.

L'utilisation de la HMT-CPG-SM ne permet pas la distinction entre les lignines et les tannins. En effet, lors de la réaction de thermochimiolyse, lignines et tannins produisent des phénols identiques. Les groupements hydroxyles des tannins n'étant pas méthylés à l'état naturel, contrairement aux groupements hydroxyles des lignines qui le sont partiellement. La différenciation entre ces deux types de biomolécules peut cependant être effectuée en utilisant du ^{13}C -TMAH (Nierop et Filley, 2008).

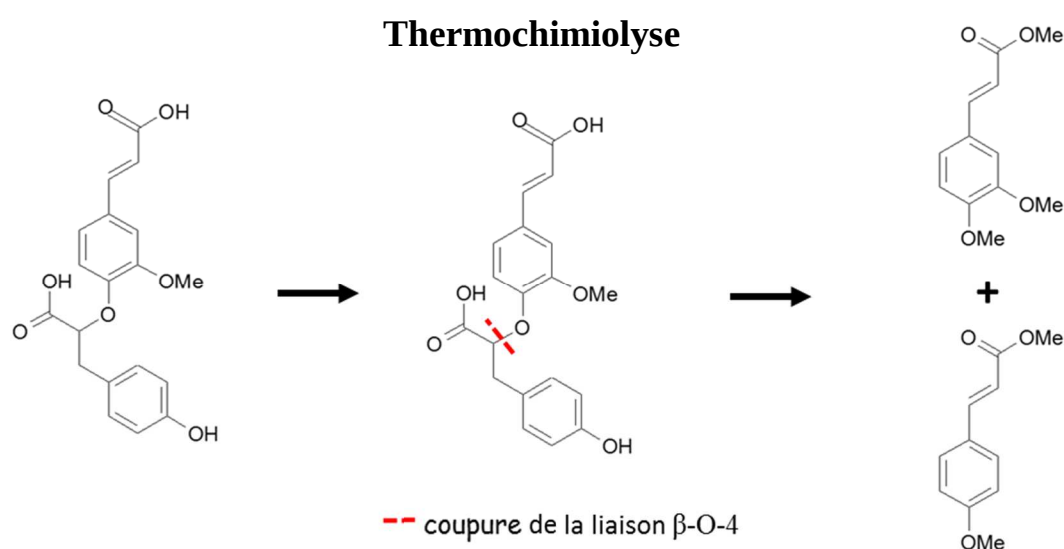


Figure 1-12 : Exemple illustrant la scission d'une liaison β -O-4 au cours de la thermochimiolyse, et la méthylation des phénols obtenus.

Utilisation comme biomarqueur moléculaire

Les lignines provenant exclusivement de la végétation, l'étude des biomarqueurs des lignines et des tannins dans les eaux (Ouellet et al., 2009) ou les sédiments (Teisserenc et al., 2011) permet de retracer un apport de matière organique terrigène. Des informations complémentaires telles que la différenciation de certaines végétations (ex : gymnospermes vs. Angiospermes) ou encore l'état de biodégradation peuvent être obtenues en utilisant les ratios entre différentes molécules spécifiques.

L'abondance des unités S, C, et V diffère en fonction du type de végétation. Les lignines des gymnospermes sont majoritairement composées d'unités V. Les lignines des angiospermes contiennent quant à elles des quantités comparables d'unités V et S. Les unités C sont quant à elles présentes en faible quantité chez les angiospermes et gymnospermes mais sont particulièrement abondantes chez les espèces non ligneuses (Killops et Killops, 2005; Opsahl et Benner, 1995). Les lignines sont donc utilisées comme biomarqueurs moléculaires à travers les ratios S/V et C/V afin de distinguer le type de végétation dont provient les lignines (Goñi et Hedges, 1992; Hedges et Mann, 1979; Opsahl et Benner, 1995).

Cependant, l'utilisation de ces ratios dans le but de mesurer quantitativement l'apport de MO par des plantes herbacées ou angiospermes implique de considérer que ceux-ci restent inchangés au cours de la dégradation. Plusieurs études portant sur l'évolution de la signature moléculaire de la lignine au cours de la dégradation ont montré de faibles variations du ratio S/V (Haddad et al., 1992; Opsahl et Benner, 1995). Au contraire le ratio C/V est sensible à la dégradation. En effet, les unités V présentent une plus forte résistance que les unités C, aboutissant à une diminution du rapport C/V au cours de la dégradation (Hedges et Weliky, 1989; Opsahl et Benner, 1995). Par ailleurs, lorsque les lignines sont dégradées, la chaîne carbonée présente sur les molécules des lignines est oxydée. Les formes aldéhydes des unités V et S sont donc converties en formes acides. Par conséquent, les ratios acide sur aldéhyde des unités V ($(Ad/Al)_V$) et des unités S ($(Ad/Al)_S$) augmentent au cours de la dégradation (Bianchi et al., 1999; Opsahl et Benner, 1995) et constituent donc aussi des marqueurs de l'intensité de dégradation des lignines.

Les biomarqueurs moléculaires issus des lignines et tannins par HMT-CPG-SM sont ainsi utilisés dans l'étude de la composition des MON (Frazier et al., 2003; Page et al., 2002; Ward et al., 2012). L'utilisation de ces biomarqueurs est appliquée dans le cadre de plusieurs problématiques telles que la détermination des sources de MOD (Kaal et al., 2017), les mécanismes de dégradation des MO (Kabuyah et al., 2012) mais également la reconstruction de paléoenvironnements (Tareq et al., 2004).

3.2.2.2 Les polysaccharides

Origine, structure et propriété

Les polysaccharides sont formés par l'assemblage de monosaccharides via une liaison glycosidique, et sont les constituants les plus abondants dans les plantes, ce qui en fait une

source primordiale d'apport de carbone aux sols (Killops et Killops, 2005). Différentes classes de monosaccharides peuvent être différenciées en fonction du nombre d'atomes de carbone qu'ils contiennent. On distingue ainsi les pentoses (C5) qui contiennent 5 atomes de carbone et les hexoses (C6) qui en contiennent 6. Les désoxyhexoses (deoxyC6) contiennent également 6 atomes de carbone mais l'un de leurs groupements hydroxyles a été substitué par un atome d'hydrogène.

Les polysaccharides peuvent provenir de sources microbiennes ou végétales (Gunina et Kuzyakov, 2015). Chez les végétaux, ils contribuent à la rigidité des structures membranaires. Le polysaccharide le plus répandu est la cellulose. Elle est très peu observée dans les échantillons de MOD due à sa forte hydrophobicité. Chez les microorganismes, les polysaccharides contribuent à la rigidité membranaire. On observe également des monosaccharides à l'intérieur de la cellule qui les utilise comme source d'énergie. Les microorganismes sont également capables d'excréter des polysaccharides alors appelés exopolysaccharides dans le milieu extérieur qui leur servent notamment à se protéger de la dessiccation (Suresh Kumar et al., 2007).

Réaction par thermochimiolyse

La HMT permet de détecter des molécules produites par les polysaccharides aussi bien sur des sols (Fabbri et Helleur, 1999; Grasset et al., 2009) que sur des échantillons de MOD (Guggenberger et Zech, 1994). La thermochimiolyse ne permet pas l'analyse de l'ensemble des monosaccharides contenus dans les chaînes polysaccharidiques. Seuls les monosaccharides libres ainsi que les monosaccharides terminaux des chaînes polysaccharidiques sont analysés. Les pentoses tels que le xylose (oses à 5 carbones), produisent au cours de la réaction de thermochimiolyse en présence de TMAH deux acides déoxy aldoniques perméthylés. Le mécanisme de formation de ces molécules a été proposé par Fabbri et Helleur, (1999) (Figure 1-13). Suivant le même mécanisme de formation, quatre acides déoxy aldoniques perméthylés sont identifiés pour les hexoses (oses à 6 carbones). Deux d'entre eux proviennent des glucose, altrose, manose et allose. Alors que les deux autres proviennent de leurs épimères, à savoir les galactose, gulose, talose et idose. De la même manière, pour les désoxyhexoses (ose à 6 carbonse dont l'un des groupements hydroxyle a été remplacé par un atome d'oxygène), quatre acides déoxy aldoniques perméthylés sont identifiés. Deux proviennent de la réaction du fucose, les deux autres provenant de son épimère, le rhamnose.

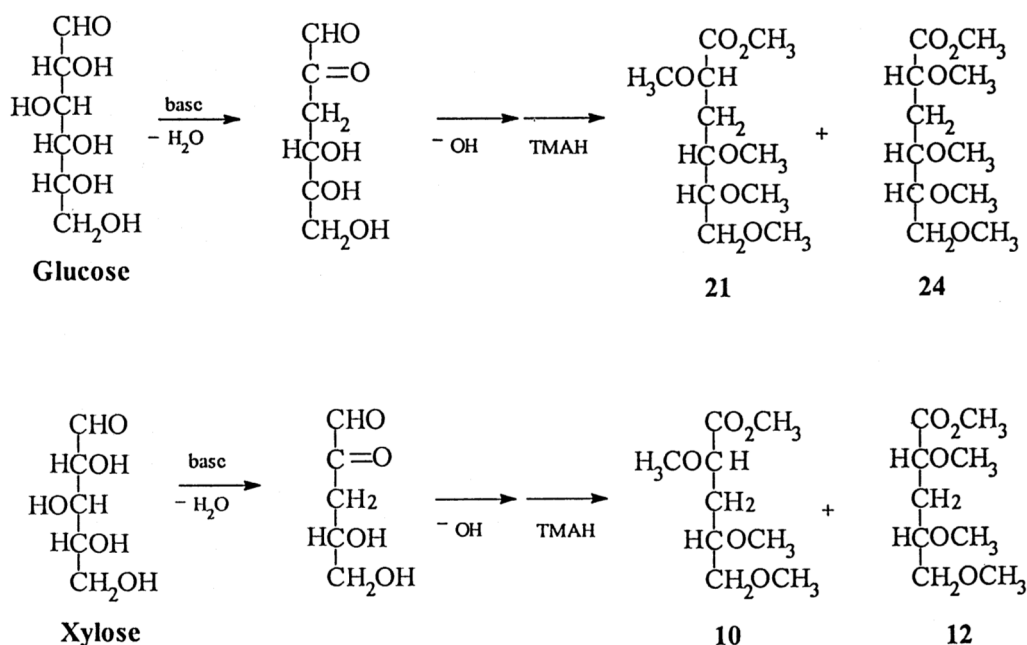


Figure 1-13 : Mécanisme de production des acides déoxy aldoniques perméthylés formés lors de la réaction de thermochimiolysse en présence de TMAH. Exemple du glucose et du xylose. D'après Fabbri et Helleur (1999)

Utilisation comme biomarqueur moléculaire

Les polysaccharides sont principalement utilisés comme biomarqueurs moléculaires dans le but de différencier l'origine végétale ou microbienne de la MO. Les monosaccharides d'origine microbienne sont essentiellement de type C6 et deoxyC6 tandis que les monosaccharides non cellulotiques d'origine végétale sont essentiellement de type C5. Par conséquent, le ratio deoxyC6/C5 est utilisé pour faire la différence entre source microbienne et source végétale. Les rapports deoxyC6/C5 < 0.5 sont caractéristiques d'une source végétale tandis qu'un rapport deoxyC6/C5 > 2 est caractéristique d'une source microbienne (Guggenberger et Zech, 1994; Oades, 1984; Rumpel et Dignac, 2006).

Les biomarqueurs moléculaires issus des polysaccharides par HMT-CPG-SM sont utilisés dans l'étude des MON. Appliqué à la MOS, les polysaccharides ont été utilisés pour la caractérisation des MO présentes dans les différents agrégats du sol (Chefetz et al., 2002; Grasset et al., 2009). Appliqué aux MOD, ils sont utilisés avec d'autres biomarqueurs moléculaires pour identifier l'hétérogénéité des sources de MOD à l'échelle d'un versant (Jiang et al., 2017).

3.2.2.3 Les lipides

Les lipides regroupent une grande diversité de composés organiques comme les acides gras, les cutines et subérines, les terpénoïdes ou encore les alcanols. Toutes ces molécules organiques ont la particularité d'être en partie ou totalement hydrophobes. L'analyse par thermochimie de la MO produit majoritairement des acides gras provenant des phospholipides des microorganismes ainsi que des cutines, subérines et des cires cuticulaires des végétaux.

Origine, structure et propriété

Les acides gras sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée portant à l'une de ses extrémités un groupement acide carboxylique. La chaîne hydrocarbonée est hydrophobe alors que le groupement acide carboxylique est hydrophile, ce qui confère aux acides gras leur caractère amphiphile. La nomenclature des acides gras se base sur le nombre de carbones de la chaîne hydrocarbonée ainsi que sur la présence éventuelle d'insaturation (présence d'une double liaison) ou d'un groupement méthyle (Figure 1-14). Les acides gras sont produits par les végétaux tout comme par les microorganismes. La distinction de leur origine est toutefois possible par le nombre de carbones qui composent leur chaîne hydrocarbonée.

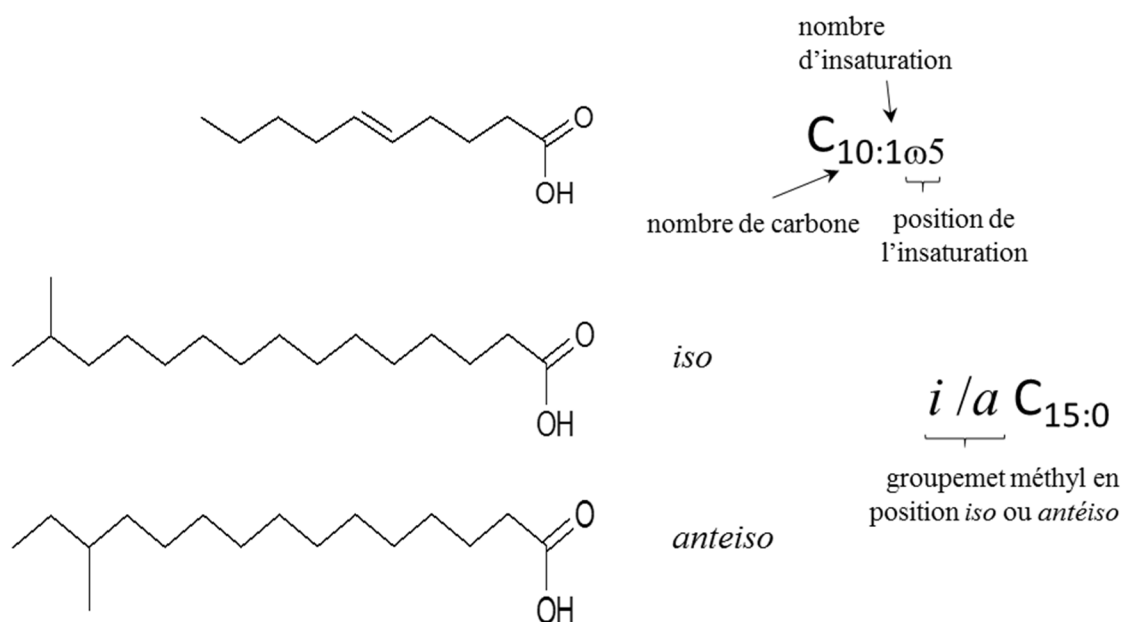


Figure 1-14 : Exemple de structure d'acides gras et signification de leur écriture symbolique

Les acides gras peuvent être impliqués dans la structuration de plusieurs types de biomacromolécules parmi lesquelles on retrouve les phospholipides, les cutines et les subérines. Les phospholipides sont un des éléments constitutifs des parois cellulaires des végétaux et des microorganismes. Ils sont composés d'un glycérol dont l'une des fonctions hydroxyle porte un acide phosphorique tandis que les deux autres portent chacune un acide gras. Les cutines et subérines sont des biopolymères végétaux présents dans la partie externe des feuilles, de l'écorce ou des racines. Elles sont le résultat de la polymérisation de plusieurs acides gras, le plus souvent hydroxylés (exemple : ω -OH C_{18:0}) ou portant deux fonctions acides carboxyliques aux deux extrémités de la chaîne hydrocarbonée (exemple : α,ω C_{18:0}) (Figure 1-15). Associées aux cires, elles forment une barrière protectrice pour la plante, contribuant ainsi à la protéger du milieu extérieur. La cutine se retrouve sur la partie aérienne des plantes tandis que la subérine est localisée dans les racines et l'écorce des plantes (Kolattukudy, 1984, 1980).

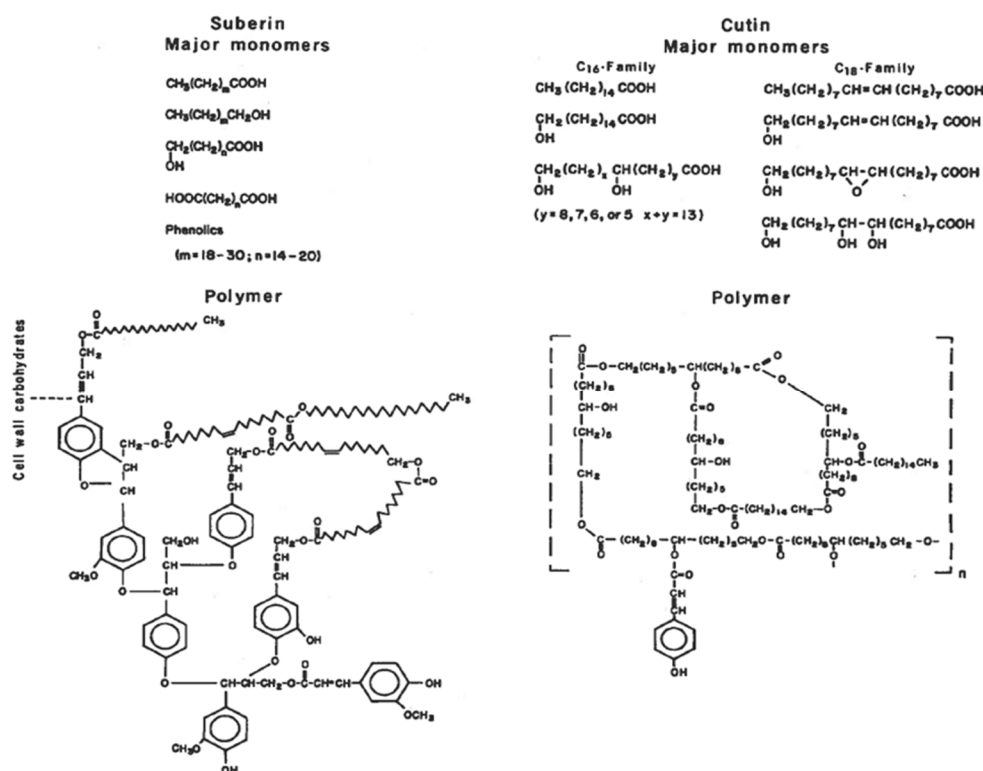


Figure 1-15 : Structure des cutines et subérines proposées par Kolattukudy (1980)

Réaction par thermochimiolyse

Les acides gras sont majoritairement trouvés sous des formes conjuguées pour lesquelles la fonction acide carboxylique est impliquée dans une fonction ester. Dans le cas des phospholipides, les acides gras sont estérifiés avec une molécule de glycérol. Les cutines et subérines sont eux des biopolyesters (Kolattukudy, 2001). La base forte apportée par le TMAH est responsable d'une trans-esterification, les acides gras sont alors présents sous forme d'esters méthylés.

Du fait de leur forte résistance à la dégradation et de leur hydrophobicité, les cutines et subérines ne se retrouvent que rarement en phase dissoute. Ces molécules sont toutefois identifiables dans les échantillons de sol. Par réaction lors de la thermochimiolyse, on observe pour les diacides une méthylation des deux groupements acides carboxyliques. Pour les hydroxyacides, la fonction acide carboxylique et la fonction hydroxyle sont toutes deux méthylées.

Utilisation comme biomarqueur moléculaire

Les acides gras sont utilisés comme biomarqueurs moléculaires afin de différencier l'origine microbienne (Kaneda, 1991; Zelles, 1999) ou végétale de la matière organique. Cette différenciation se base sur le nombre de carbones qui composent la chaîne hydrocarbonée. Les végétaux produisent des acides gras de 19 carbones ou plus, avec une prédominance des acides gras avec un nombre de carbones pair. Les acides gras microbiens contiennent 12 à 18 atomes de carbone et peuvent être insaturés. Les acides gras $C_{16:0}$ et $C_{18:0}$ étant ubiquistes, ils ne permettent pas de différencier les deux origines (Frostegard et al., 1993; Matsuda et Koyama, 1977). Basé sur cette différenciation il est possible de calculer la proportion d'acide gras microbiens (%*F_{Amic}*). De plus, les acides gras de $C_{13:0}$ à $C_{17:0}$ ramifiés en position *iso* et *anteiso* sont des marqueurs spécifiques attestant de la présence de bactéries Gram positives et de bactéries anaérobies Gram négatives (Bossio et Scow, 1998; Guezennec et Fiala-Medioni, 1996; Lechevalier et Moss, 1977). Ces acides gras sont absents du métabolisme des animaux et des végétaux supérieurs.

Les biomarqueurs moléculaires issus des acides gras par HMT-CPG-SM sont ainsi utilisés dans plusieurs problématiques environnementales et permettent d'identifier des acides gras présents dans la MON. Ils sont ainsi utilisés dans la caractérisation des boues d'épuration (Réveillé et al., 2003), la détermination de sources anthropiques de MOD dans les rivières (Le

Meur et al., 2017) et l'étude des cutines et subérines dans des sols forestiers (Rosenberg et al., 2003). Couplés à d'autres biomarqueurs moléculaires comme les lignines, ils permettent la différenciation et la classification de différents sols suivant la MOS qu'ils contiennent (Lee et al., 2012).

4. Problématique et objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est d'apporter une meilleure compréhension des mécanismes de solubilisation et de transfert des MOD qui ont lieu dans les sols de bassins versants de tête en contexte agricole, et ce à l'échelle saisonnière et à l'échelle de l'évènement de crue. Pour répondre à cette problématique, l'outil analytique utilisé a consisté en une caractérisation moléculaire de la MOD contenue dans les différents échantillons par HMT-CPG-SM. Les données obtenues sont présentées dans trois chapitres variant selon les échelles spatiales et temporelles.

Chapitre 3 : La porosité des filtres utilisés lors de la filtration des échantillons a-t-elle un impact sur la composition moléculaire de la MOD ainsi isolée ?

Ce premier chapitre se place à l'échelle de l'organisation moléculaire et est présenté sous la forme d'un article publié dans Organic Geochemistry (Denis et al. 2017). Il porte sur une comparaison de la composition moléculaire des MOD en fonction du seuil de coupure utilisé lors de la filtration pour des échantillons provenant du continuum sol-ruisseau. Les seuils utilisés dans la littérature varient et il est nécessaire de déterminer si cette étape peut générer un biais méthodologique.

Chapitre 4 : Lors des épisodes de crues, y a-t-il une modification de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol en lien avec la mise en place d'une érosion macroporale ?

Ce chapitre se place à l'échelle spatiale du bassin versant et à l'échelle temporelle des crues. Il est développé sous la forme d'un article en cours de discussion dans Biogeosciences (Denis et al. en discussion). Il correspond à la continuité des travaux de Jeanneau et al., (2015). L'objectif de cette étude a été de déterminer si les changements de conditions

hydrologiques dans les sols au moment des crues sont responsables d'un changement de composition moléculaire de la MOD dans les solutions de sol. De plus, si ce changement est avéré, est-il en lien avec les changements de composition moléculaire observés à l'exutoire ?

Chapitre 5 : Existe-t-il un transfert de versant en lien avec l'évolution des conditions hydrologiques qui a lieu au cours de l'année ?

Ce chapitre se place à l'échelle spatiale du bassin versant et à une échelle temporelle pluriannuelle. Il est rédigé en français et se place dans la continuité des travaux de Lambert et al. (2014). L'objectif de ce chapitre est de déterminer s'il est possible d'identifier directement le transfert de MOD des versants agricoles vers le ruisseau via la zone riparienne en observant simultanément la composition moléculaire et la signature isotopique de ces trois zones.

Chapitre 2

Matériel et méthodes

1. Présentation du site d'étude et préparation des échantillons

1.1 Le bassin versant de Kervidy-Naizin

1.1.1 Historique du bassin versant

Le bassin versant de Kervidy-Naizin se situe en Bretagne, au Nord du département du Morbihan, à 15 km à l'Est de la ville de Pontivy (Figure 2-1). Ce bassin versant d'une superficie de 4.9 km² est drainé par le Coët-Dan, un cours d'eau de second ordre d'après la classification de Strahler. Son exutoire se situe au Sud du bassin versant et au Nord du village de Naizin.

Les premières études sur ce site ont été menées en 1972 par l'IRSTEA (alors identifié comme le CEMAGREF) dans le but d'évaluer les effets du remembrement et de la suppression du bocage sur l'hydrologie, l'érosion et les rendements agronomiques. A l'époque, les études étaient alors menées sur le bassin versant de Naizin (12 km²) dont l'exutoire se situe au Sud du village de Naizin et dont le bassin de Kervidy-Naizin constitue la partie Nord (Figure 2-1). Depuis 1992, différentes études, conduites par l'INRA et le CNRS se focalisent sur le sous-bassin de Kervidy-Naizin dans le but d'étudier les effets du climat et de l'agriculture sur les transferts d'eau et de solutés, nitrates, phosphore et carbone organique dissous principalement. Les équipements implantés permettent le suivi du cours d'eau, de la nappe ainsi que de l'eau du sol. En 2006, de nouveaux dispositifs ont permis d'intégrer le compartiment atmosphérique avec le suivi des émissions de gaz azotés et de gaz à effets de serre. L'ensemble de ces dispositifs permet une meilleure compréhension des cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote et du phosphore ainsi que leur couplage.

Le bassin versant de Kervidy-Naizin est depuis 2006 intégré à l'Observatoire pour la Recherche en Environnement (ORE) AgrHyS (pour agrohydrosystèmes) dont l'objectif est d'étudier les temps de réponse des flux hydrogéochimiques ainsi que l'évolution des hydrosystèmes influencés par les systèmes agricoles, cet ORE étant lui-même intégré au SOERE « Réseau de Bassins Versants ».

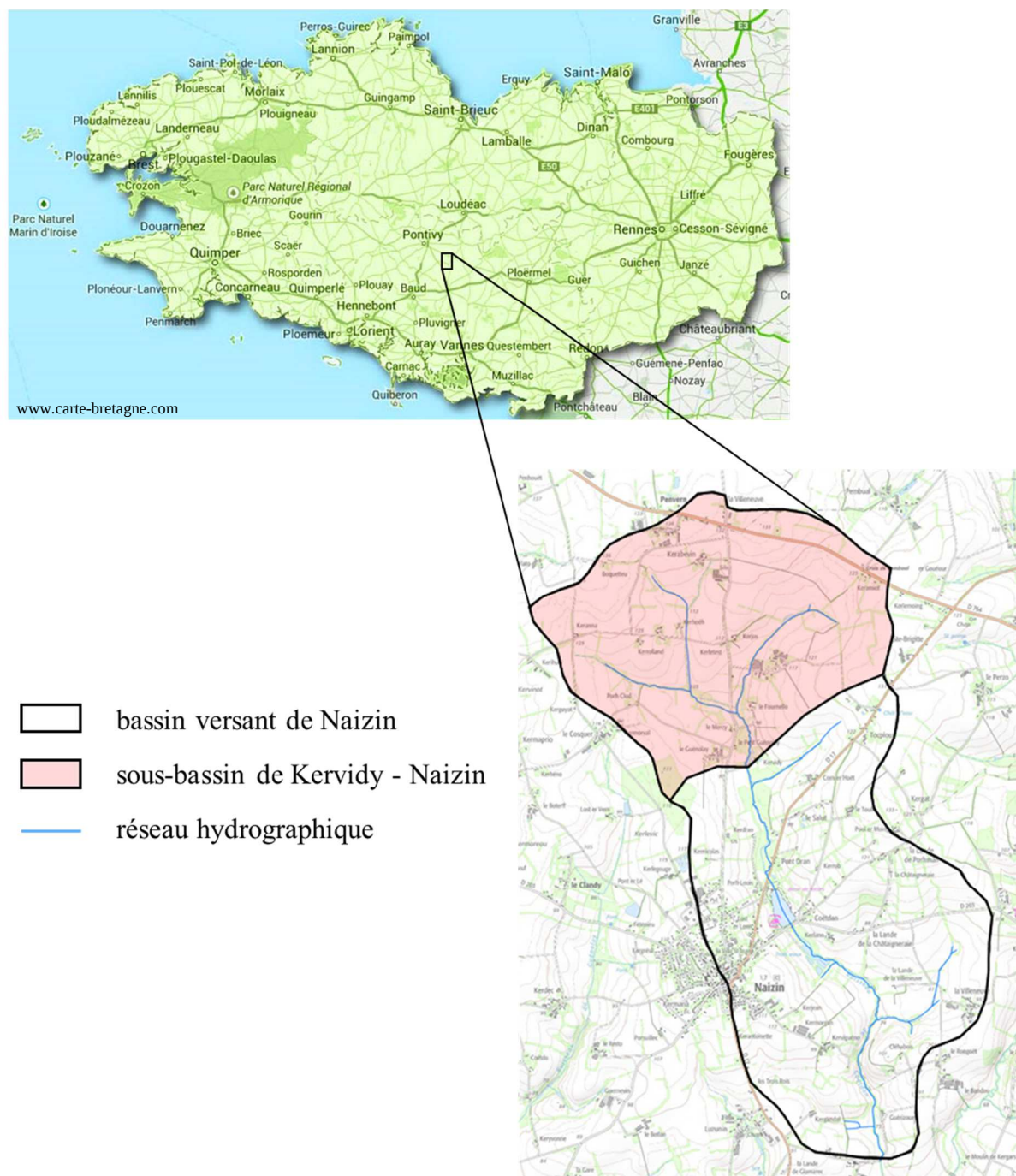


Figure 2-1 : Localisation du bassin versant de Naizin et du sous-bassin de Kervidy-Naizin.

1.1.2 Géologie, nature et occupation des sols

Les sols du bassin versant se sont développés sur un socle géologique constitué de schistes briovériens fissurés et fracturés. L'altération des schistes ainsi que l'apport de matériels limoneux quaternaires ont conduit à la formation de sols à texture limoneuse à argilo-limoneuse. La profondeur des sols est variable, de 35 m à 5 m d'épaisseur. Les sols de zones de bas topographiques étant généralement plus épais que ceux de haut de versants. Les sols de haut de versant sont des luvisols bien drainés. Dans les zones de bas-fonds, les sols sont hydromorphes de type redoxisols du fait de leur saturation par la nappe une grande partie de l'année.

Le bassin versant est à 90% dédié à l'agriculture, dominée par l'élevage intensif principalement porcin. Les sols sont utilisés comme prairie, cultures de maïs et cultures de céréales. On retrouve également de manière sporadique des terres utilisées pour la culture de légumineuses et quelques zones boisées.

1.1.3 Climatologie et caractéristiques hydrologiques

Le bassin versant de Kervidy-Naizin est soumis à un climat océanique humide caractérisé par des hivers frais et des étés doux (Figure 2-2). Les précipitations sont importantes entre la fin de l'automne et le début du printemps. Des précipitations modérées sont observées le reste de l'année. Entre 1994 et 2016, les moyennes annuelles de précipitations et de températures, relevées à la station météorologique située sur le bassin versant, atteignent respectivement 837 ± 173 mm et 11.3 ± 0.6 °C (moyenne $\pm$ écart type).

D'un point de vue hydrologique, le bassin versant est caractérisé par le développement d'une nappe peu profonde dans la zone fortement altérée du socle. Cette nappe contribue à l'alimentation du cours d'eau. Le régime de précipitation conduit à une succession de crues pendant la période hivernale qui permet le maintien de la nappe relativement proche de la surface. La diminution des précipitations à la fin du printemps et pendant l'été conduit à une baisse du niveau de la nappe qui induit une période d'étiage aboutissant la plupart des années à un tarissement complet du cours d'eau.

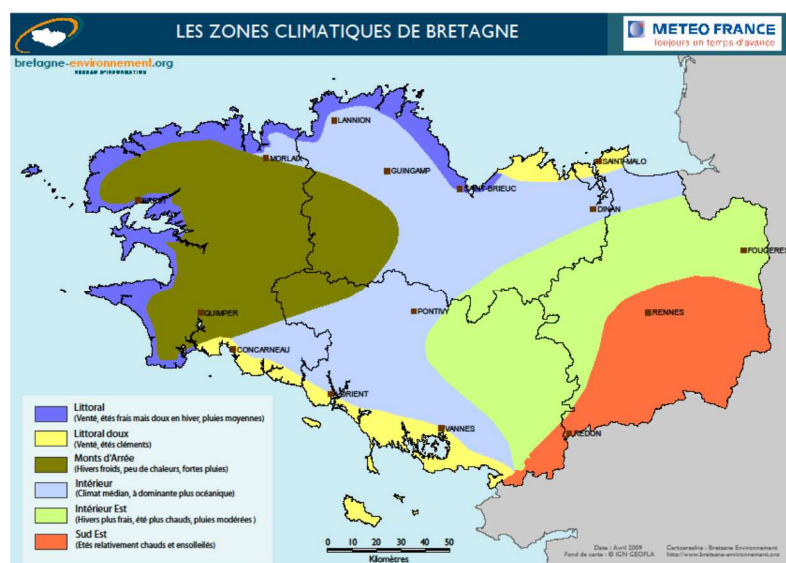


Figure 2-2 : Zones et caractéristiques climatiques de Bretagne

1.2 Dispositifs expérimentaux

1.2.1 Suivi météorologique

Les données météorologiques (précipitations, température de l'air et du sol, évapotranspiration) sont collectées par le biais d'une station météorologique implantée à 1 km à l'Est de l'exutoire. La quantité de précipitation est intégrée sur une échelle de temps horaire.

1.2.2 Suivi de la dynamique de nappe

La dynamique de la nappe est suivie tout au long de l'année à l'aide de piézomètres implantés le long de deux transects perpendiculaires à la topographie, et s'étendant du bord du cours d'eau aux zones de plateaux (Chapitre 2 section 1.3). Les capteurs de pression installés sur ces piézomètres permettent de mesurer le niveau de la nappe avec une précision de 2 mm et avec une fréquence d'une mesure toutes les 15 minutes. Ces piézomètres permettent également un suivi physico-chimique réalisé manuellement deux fois par an. Les paramètres mesurés sont les concentrations en COD, CID, chlorures, nitrates et sulfates ainsi que le pH et l'absorbance UV à 254 nm.

1.2.3 Echantillonnage de la solution de sol

L'échantillonnage de la solution de sol dans les parties du bassin versant où la nappe remonte dans les horizons organo-minéraux et organiques du sol a été réalisé via l'utilisation de pièges à eau implantés à différentes profondeurs. Constitués de flacons en polyéthylène basse densité de 250 ml, ces dispositifs permettent de collecter la solution de sol en circulation dans les macropores via une zone crépinée située en haut de flacon. La solution de sol ainsi collectée peut être échantillonnée par pompage manuel (Figure 2-3). Pour chaque point de suivi du bassin versant, trois pièges à eau sont installés à une même profondeur de manière à capter l'hétérogénéité spatiale. Lors de l'échantillonnage des solutions de sol, l'échantillon récupéré est un composite de la solution de sol collectée dans ces trois pièges. Dans cette étude, la solution de sol a été échantillonnée durant trois années hydrologiques consécutives, entre Octobre 2013 et Juin 2016. En période estivale, entre Juillet et Septembre, la circulation d'eau dans les macropores étant insuffisante ou absente, aucun échantillon n'a été prélevé. Les pièges sont vidangés chaque année avant la reprise des échantillonnages. Ce dispositif a également permis la collecte d'échantillons de solution de sol en période de crue avec un échantillonnage haute fréquence pouvant aller jusqu'à 1 échantillon par heure.

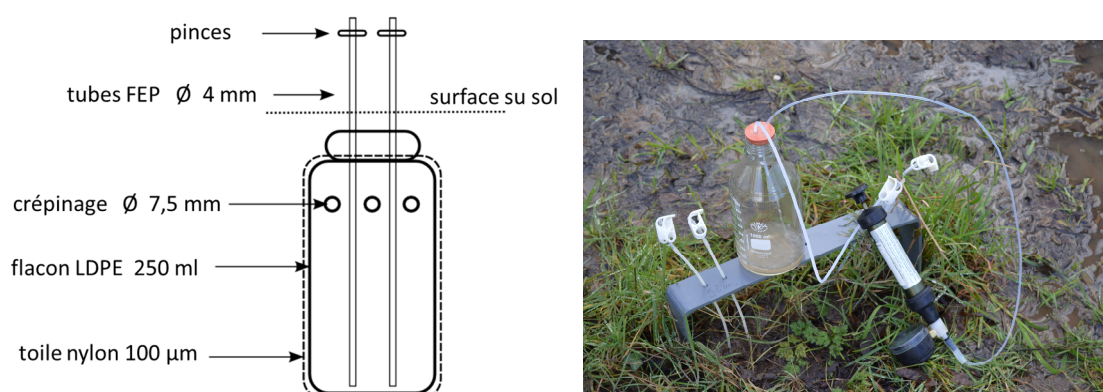


Figure 2-3 : gauche - schéma d'un piège à eau (Dupas et al ; 2015a) ; droite - collecte d'un échantillon par pompage manuel

1.2.4 Suivis à l'exutoire

L'exutoire du bassin versant est équipé d'un seuil rectangulaire, permettant, grâce à un capteur de pression et un étalonnage, le suivi du débit avec une fréquence de mesure toutes les minutes (Figure 2-4). L'exutoire est également équipé d'un turbidimètre permettant le suivi de la turbidité au niveau du seuil avec une fréquence d'une mesure toutes les 15 minutes.

Un prélèvement manuel réalisé quotidiennement permet de suivre la concentration en anions majeurs (chlorures, nitrates et sulfates), COD et CID, ainsi que l'absorbance UV à 254 nm sur les échantillons filtrés à 0.2 μm immédiatement après leur prélèvement. Les matières en suspensions (MES) font également l'objet d'un suivi et sont mesurées par pesée après filtration à 0.45 μm .

Le suivi de la composition moléculaire de la MOD à l'exutoire est réalisé à l'échelle annuelle par prélèvement manuel en même temps que les solutions de sol. Cet échantillonnage basse fréquence est complété par un échantillonnage haute fréquence en crue réalisé à l'aide de trois préleveurs automatiques ayant chacun une capacité de 24 flacons. La fréquence d'échantillonnage de ces préleveurs peut être adaptée en fonction de la spécificité de la crue à échantillonner. Le début de la séquence d'échantillonnage est contrôlé par l'évolution de la hauteur du niveau d'eau dans le seuil. L'échantillonnage débute lorsque l'augmentation du débit est supérieure à 1 L/s pendant 10 minutes.



Figure 2-4 : gauche - seuil à l'exutoire du bassin versant ; droite - préleveurs automatiques situés quelques mètres en amont du seuil

1.3 Zones d'étude

1.3.1 Transect de Kerrolland

Le transect de Kerrolland se situe dans la partie Ouest du bassin versant (Figure 2-5). Depuis le cours d'eau jusqu'au haut du versant se trouvent successivement :

- (i) Une zone humide riparienne (K1) où la végétation se compose de feuillus, d'arbustes ainsi que de plantes herbacées. Une première série de trois pièges à eau est installée dans l'horizon organique, à 10 cm de profondeur. Une deuxième série se situe dans l'horizon minéral, à 55 cm de profondeur. Cette zone humide se caractérise par une saturation prolongée des sols pendant la période hiver / printemps et la mise en place progressive de conditions réductrices au printemps.
- (ii) Un bas de versant agricole (K2) utilisé principalement pour la culture du maïs pendant notre période d'étude. Pendant la période hivernale, la partie la plus aval subit une saturation importante des sols tandis que la partie amont est caractérisée par une alternance de saturation / désaturation en lien avec le battement de nappe.
- (iii) Une zone de haut de versant agricole (K3), un replat topographique intégré à la même parcelle agricole que la zone K2. Deux séries de pièges sont installées au point K3, dans l'horizon organique à 15 cm et dans l'horizon organo-minéral à 40 cm. En période hivernale, cette zone est le lieu de battements de la nappe dans l'horizon de surface, responsables d'une alternance de périodes de saturation et de désaturation de cet horizon.

1.3.2 Transect de Guériniéc

Le transect de Guériniéc se situe dans la partie Est du bassin versant (Figure 2-5). Depuis le cours d'eau jusqu'au haut de versant, se trouvent successivement :

- (i) Une bande enherbée où se trouvent deux points de mesure où sont implantés des pièges à eau. Sur le premier point, à proximité du cours d'eau (G2) une première série de pièges à eau est implantée dans l'horizon organique à 15 cm et une deuxième est implantée dans l'horizon minéral à 50 cm. Sur le deuxième point de mesure situé dans la partie haute de la bande enherbée (G3), les pièges à eau sont implantés aux mêmes profondeurs. Pendant la période hivernale, la nappe peut

atteindre la surface à l'un et l'autre de ces points mais n'y reste pas de manière prolongée.

- (ii) Un versant agricole ne disposant pas de pièges à eau. Sur le bas du versant la nappe peut atteindre ponctuellement la surface mais elle n'atteint jamais l'horizon organique sur la partie haute du versant.

1.3.3 Zone humide du Mercy

La zone humide du Mercy se situe à proximité du versant de Kerrolland (Figure 2-5). La végétation se compose de feuillus, d'arbustes et de quelques plantes herbacées. Une première série de pièges à eau est implantée dans l'horizon organique à 10 cm tandis qu'une deuxième est implantée dans l'horizon minéral à 55 cm. Pendant la période hivernale, on observe une saturation prolongée des sols ainsi que la mise en place progressive de conditions réductrices.

1.4 Echantillonnage

1.4.1 Echantillonnage basse fréquence

L'échantillonnage basse fréquence mis en place pendant trois années hydrologiques consécutives a été utilisé dans le but d'observer les variations saisonnières des MOD des solutions de sol et de la rivière. Dans la continuité des études menées au préalable sur le transect de Kerrolland, cet échantillonnage a permis d'étudier le transfert de MOD à l'échelle d'un versant agricole, en lien avec la dynamique de nappe. L'échantillonnage des solutions de sol a été réalisé toutes les semaines entre Octobre 2013 et Janvier 2014 (Figure 2-6 A), puis toutes les deux semaines jusqu'en Juin 2016 (Figure 2-6 B et C). Cet échantillonnage à intervalle régulier a permis de réaliser des prélèvements dans des conditions hydrologiques contrastées.

La première année d'échantillonnage ayant eu lieu avant le début de cette thèse, l'échantillonnage et la préparation de ces échantillons ont été réalisés conjointement par le personnel de Géosciences Rennes et de l'INRA de Rennes.

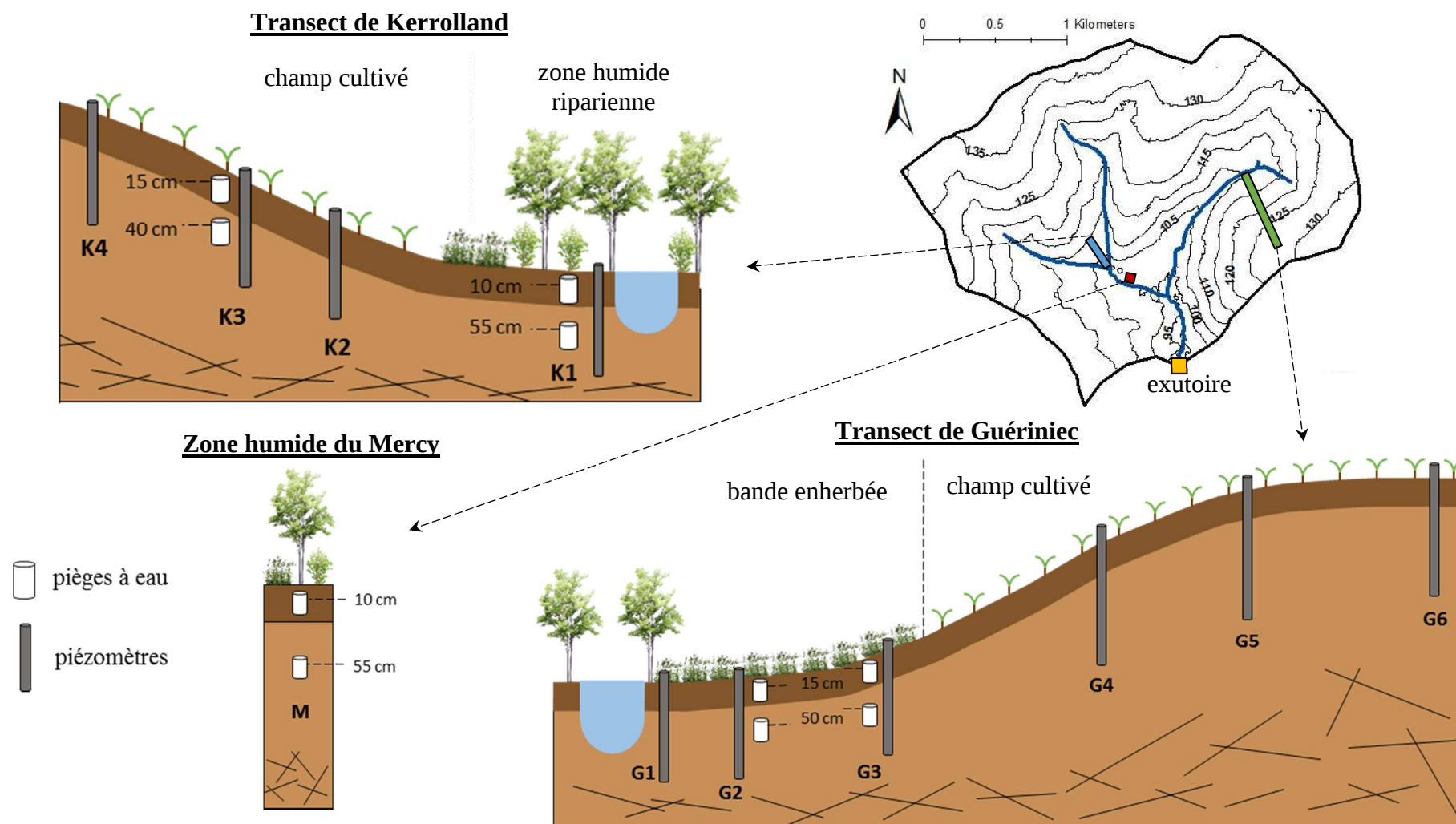


Figure 2-5 : Localisation sur le bassin versant de Kervidy-Naizin de la zone humide et des deux transects faisant l'objet d'un suivi. Description des zones d'implantation des piézomètres et des pièges à eau.

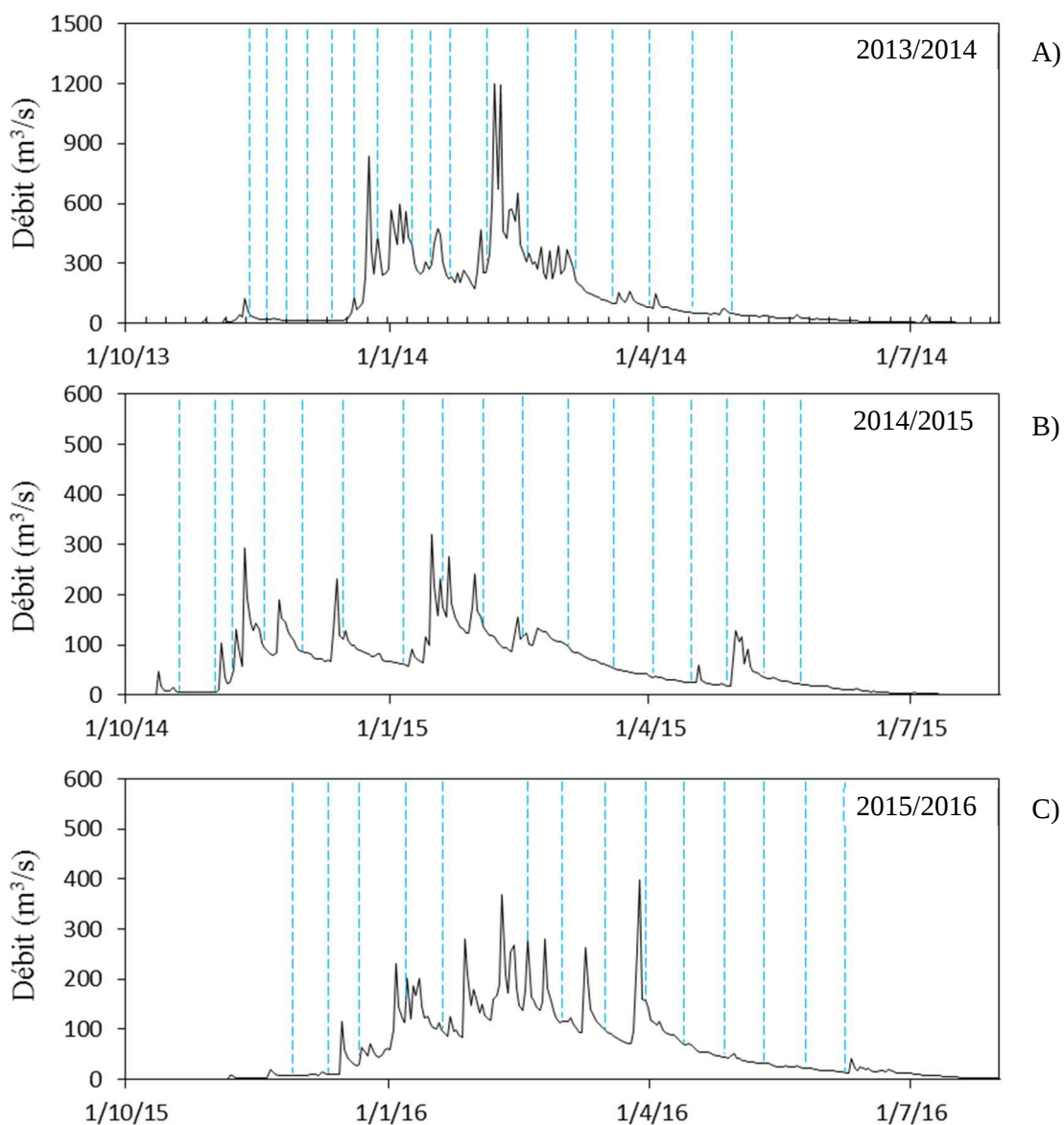


Figure 2-6 : Identification des dates d'échantillonnage basse fréquence au cours des trois années hydrologiques.

1.4.2 Echantillonnage haute fréquence des épisodes de crue

Plusieurs périodes d'échantillonnage haute fréquence ont été mises en place au cours de ces trois années de suivi. L'objectif était d'observer avec une résolution plus fine les MOD exportées par les solutions de sol et la rivière pendant des épisodes de crue. La fréquence d'échantillonnage appliquée a été variable en fonction des crues, avec 1 échantillon toutes les heures à 1 échantillon toutes les 2 heures. Lors de la première année de suivi, 7 crues ont été

échantillonnées avec uniquement le prélèvement d'eau de rivière à l'exutoire par les préleveurs automatiques (Figure 2-7 A). L'échantillonnage conjoint de la solution de sol et de la rivière à l'exutoire a été mis en place pour les crues échantillonnées lors des deux années hydrologiques suivantes. Trois crues ont été suivies pendant la deuxième année hydrologique (Figure 2-7 B). Pour chacune de ces crues l'échantillonnage a été effectué de manière à couvrir la diminution du débit et le retour à des conditions hors crues. Deux crues ont été échantillonnées pendant la troisième année hydrologique (Figure 2-7 C). Suite aux résultats

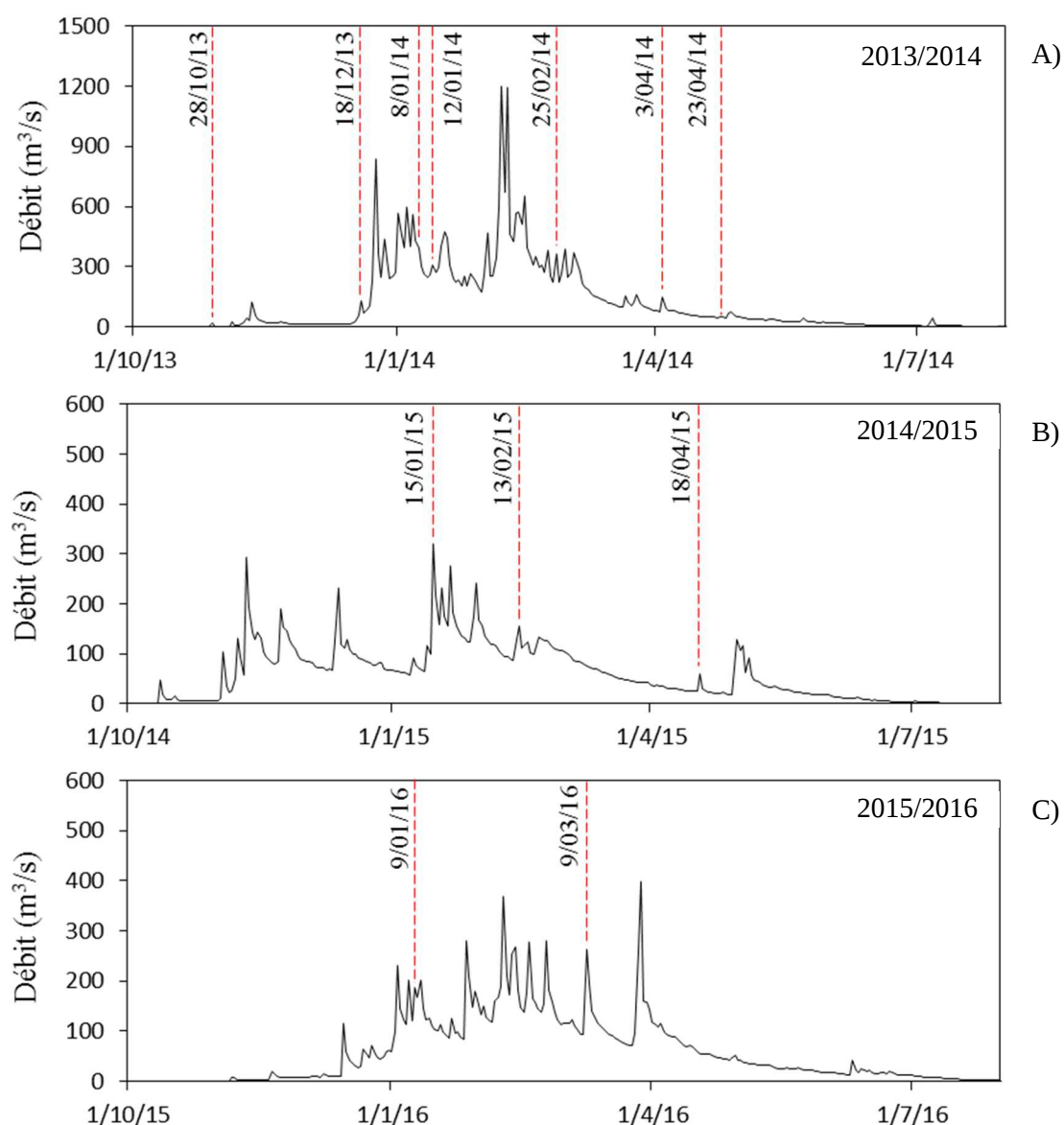


Figure 2-7 : Identification des crues ayant fait l'objet d'un échantillonnage haute fréquence au cours des trois années hydrologiques.

obtenus pour les crues précédentes, il a été décidé d'étendre la période d'échantillonnage afin de couvrir les deux ou trois jours consécutifs à la crue. Durant cette période, la fréquence d'échantillonnage a été réduite à 2 ou 3 échantillons par jour.

1.4.3 Les solutions de ruissellement

L'échantillonnage des solutions de sol pendant les crues a permis d'observer la présence d'un ruissellement de surface important dans la zone humide riparienne du transect de Kerrolland. Au moment où les crues ont lieu, la génération de ce ruissellement de surface est favorisée par la saturation du sol dans cette zone du bassin versant. Il est alors possible d'observer des chenaux de circulation préférentielle qui drainent les solutions de ruissellement depuis le bas du versant agricole jusqu'à la rivière. Lors des crues échantillonnées, cette solution de ruissellement a été collectée manuellement dans la portion de ces chenaux se situant dans la zone K1, à raison de 2 à 3 échantillons par crue.

1.4.4 Les sols

Lors de la mise en place des pièges à eau, des échantillons de sols ont été prélevés tous les 10 cm à 20 cm. Ces échantillons ont permis de regarder la composition des MOS le long des différents profils de sol.

2. Caractérisation de la matière organique dissoute

Les solutions de sol, de ruissellement ou de rivière ont été filtrées au laboratoire dans les 24 heures suivant leur échantillonnage. Une première filtration réalisée sur des filtres en fibre de verre (GF/F, Sartorius, Allemagne) de 0.7 μm permet d'éliminer la majeure partie des matières en suspension présentes dans l'échantillon. Une deuxième filtration est réalisée sur des filtres en acétate de cellulose (Sartorius, Allemagne) de 0.2 μm . Ces derniers sont préalablement lavés avec 500 mL d'eau ultrapure afin de prévenir tout relargage potentiel de carbone organique.

Une aliquote de 60 mL est prélevé pour mesurer les concentrations en COD, CID, anions majeurs et pour les mesures d'absorbance UV. Le volume restant des échantillons est acidifié par l'ajout de 1 mL/L d'acide chlorhydrique à 1 mol/L afin d'éliminer le carbone inorganique,

puis lyophilisé afin de réaliser les analyses isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$) et moléculaires de la MOD par HMT-CPG-SM. L'ensemble de ces analyses permettant de fournir des niveaux complémentaires d'information.

2.1 Analyse quantitative du carbone

Les analyses quantitatives de carbone ont été réalisées sur l'analyseur de carbone TOC (Shimadzu, Japon). L'analyse des échantillons permet la détermination de la concentration en carbone organique dissout (COD) et carbone inorganique dissout (CID).

2.2 Absorbance UV-visible

L'absorbance des MOD pour des longueurs d'ondes appartenant aux domaines de l'ultraviolet et du visible est utilisée depuis de nombreuses années. Les spectres d'absorbance ainsi que l'absorbance à certaines longueurs d'ondes spécifiques sont ainsi utilisés comme des paramètres de caractérisation des MOD (Bricaud et al., 1981; Helms et al., 2008).

L'absorbance à certaines longueurs d'onde spécifiques a ensuite été identifiée comme permettant de caractériser l'aromaticité des MOD (Weishaar et al., 2003). L'absorbance est ainsi utilisée pour calculer le SUVA (Spécific UV Absorbance) qui correspond à l'absorbance à la longueur d'onde spécifique (m^{-1}) divisée par la concentration en COD (mg/L). Pour les échantillons utilisés dans cette thèse, le SUVA a été mesuré sur un spectromètre UV-visible (Perkins Elmer, Lambda 25) à deux longueurs d'onde spécifiques : 254 nm et 280 nm.

2.3 Isotopie du carbone ($\delta^{13}\text{C}$)

L'analyse isotopique du COD contenu dans les différents échantillons a été réalisée au laboratoire Isotopes Stables de l'INRA à Saint-Gilles. Les analyses sont réalisées sur un analyseur élémentaire (EA-CE 1500 NA, Carlo Erba) couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique (VG Isoprime). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ obtenues correspondent à la variation relative mesurée entre le ratio $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de l'échantillon et du standard interne (Vienna Pee Dee Belemnite).

2.4 Concentration en Fer II

La concentration en Fer II des échantillons a été déterminée par colorimétrie. Le mélange entre le réactif (solution de phénantroline-1,10), la solution tampon (solution d'acétate d'ammonium - acide acétique cristallisable) et l'échantillon est effectué sur le terrain immédiatement après prélèvement de l'échantillon. Dans cette solution tamponnée, le Fe II et la phénanthroline-1,10 forment un complexe rouge orangé. Par comparaison avec une gamme d'étalonnage, la mesure spectrométrique de l'absorbance du complexe ainsi formé pour une longueur d'onde de 510 nm (spectromètre Perkin Elmer, Lambda 25) permet de déterminer la concentration en Fe II de la solution.

2.5 Méthode d'analyse moléculaire par dégradation thermique

Au cours de ces travaux de thèse, la caractérisation moléculaire de la MOD des différents échantillons a été réalisée par hydrolyse et méthylation assistée par la température, couplée à une chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse (HMT-CPG-SM). Les paragraphes suivants ont pour objectifs de présenter brièvement cette technique d'analyse, ainsi que la manière donc les résultats ont été traités.

2.5.1 Thermochimiolyse

La thermochimiolyse consiste en une hydrolyse et une méthylation des biomacromolécules présentes dans la MOD, assistée par la température. Cette étape permet de couper ces macromolécules afin d'obtenir des motifs moléculaires.

Dans le cadre des analyses réalisées dans cette thèse, un mélange d'environ 2 mg de lyophilisat et 10 mg d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH - Sigma Aldrich) est introduit dans un réacteur. La thermochimiolyse est réalisée dans un pyrolyseur de type microfurnace PZ-2020D (Frontier Laboratories) (Figure 2-8). La pyrolyse est réalisée à 400°C pendant 1 minute. Une fraction de la phase gazeuse produite lors de cette étape de pyrolyse est ensuite injectée dans un chromatographe en phase gazeuse. Pour cela l'injecteur est maintenu à une température de 310°C et la ligne de transfert entre le pyrolyseur et le chromatographe en phase gazeuse est à 321°C.

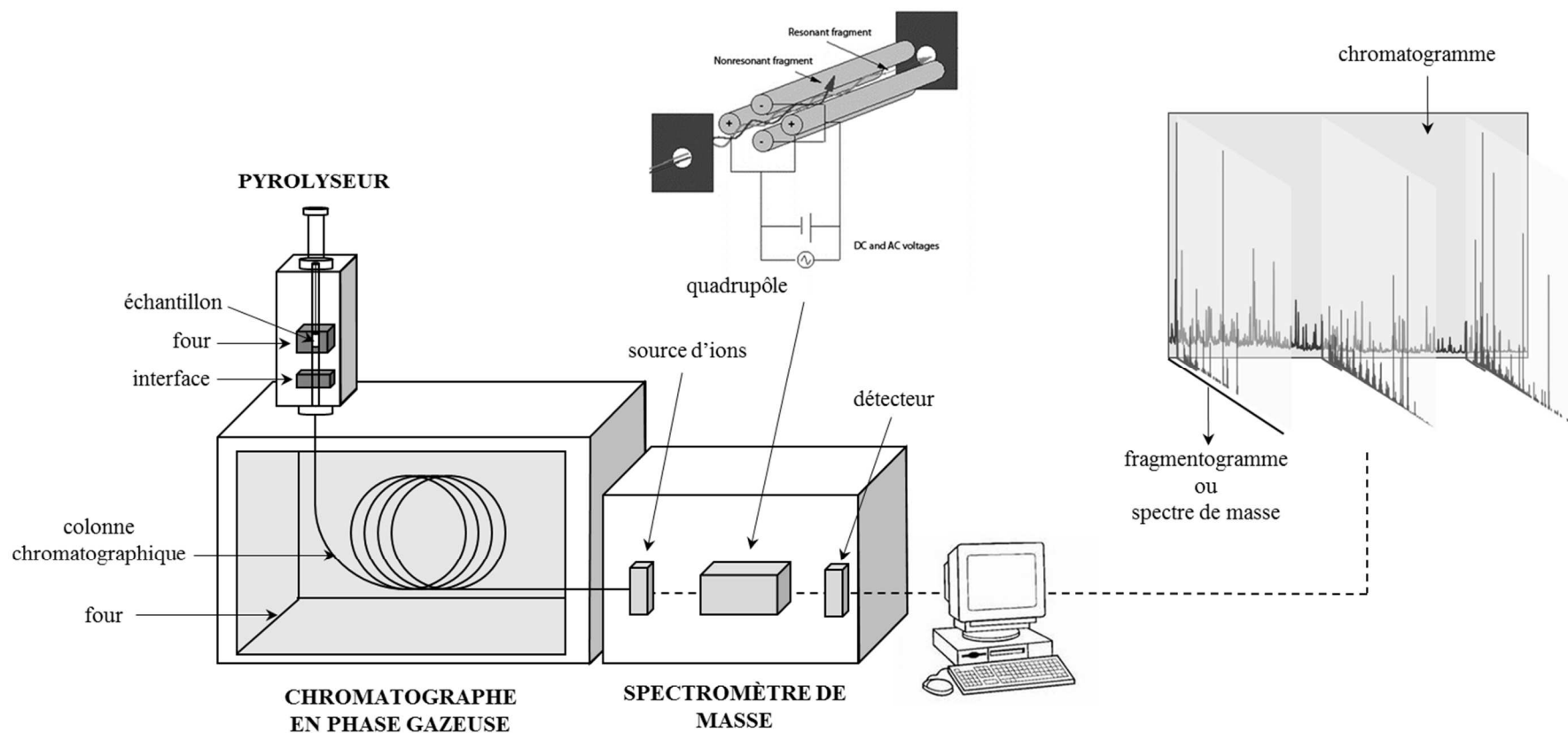


Figure 2-8 : Schéma du dispositif d'analyse de pyrolyse couplée au système de chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse.

2.5.2 Couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse

L'objectif de la chromatographie en phase gazeuse est de séparer les molécules contenues dans la phase gazeuse produite lors de la thermochimiolysse. Cette séparation a pour objectif une meilleure identification des différentes molécules, en limitant autant que possible leurs co-élutions. Pour cela, l'échantillon gazeux est injecté dans la colonne par un gaz vecteur. Dans notre cas, l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur car il présente l'avantage de ne pas réagir avec l'échantillon. Le long de la colonne chromatographique, les molécules présentes dans l'échantillon vont être progressivement séparées en fonction de leur affinité avec la colonne. Ainsi, les molécules les plus rapidement éluées sont celles ayant le moins d'affinité avec la colonne.

En sortie de colonne chromatographique, les molécules sont transférées vers le spectromètre de masse (Figure 2-8). L'ionisation des molécules conduit alors à la formation de cations radicaux instables qui par conséquent vont se fragmenter. Le processus de fragmentation de ces cations radicaux ne se produit pas au hasard, ainsi un même cation radical produira toujours les mêmes fragments. Ceux-ci sont transférés via un champ électrique à l'analyseur afin de déterminer leur rapport masse/charge (m/z).

Dans le cadre des analyses réalisées dans cette thèse, le chromatographe en phase gazeuse GC-2010 (Shimadzu, Japon) est équipé d'une colonne capillaire SLB 5 MS à phase apolaire (longueur 60 m, diamètre 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 μm). La température du four dans lequel se trouve la colonne est initialement de 50°C. Cette température est maintenue 2 minutes puis augmente jusqu'à 150°C à raison de 15°C/min. Puis la température augmente de nouveau jusqu'à 310°C à raison de 3°C/min et est maintenue pendant 14 minutes. La ligne de transfert vers le spectromètre de masse QP2010+MS (Shimadzu, Japon) est maintenue à 280°C. L'ionisation par impact électronique est faite avec une énergie de 70eV dans une source d'ionisation chauffée à 200°C. La détection des fragments est réalisée pour une plage de valeurs de m/z allant de 50 à 600.

2.5.3 Traitement des données

Identification et intégration

En fin d'analyse, les résultats sont obtenus sous la forme d'un chromatogramme, qui correspond donc à la somme de tous les fragments détectés à chaque instant de l'analyse (Figure 2-9). L'identification des molécules est réalisée par comparaison des spectres de masses obtenus avec la base de données du National Institut of Standards and Technology (NIST) ainsi que plusieurs publications (Grasset et al., 2009; Kuroda, 2002; Kuroda et al., 2002; Nierop et Verstraten, 2004; Nierop et al., 2005). Chaque molécule est ainsi identifiée par la présence de fragments m/z spécifiques.

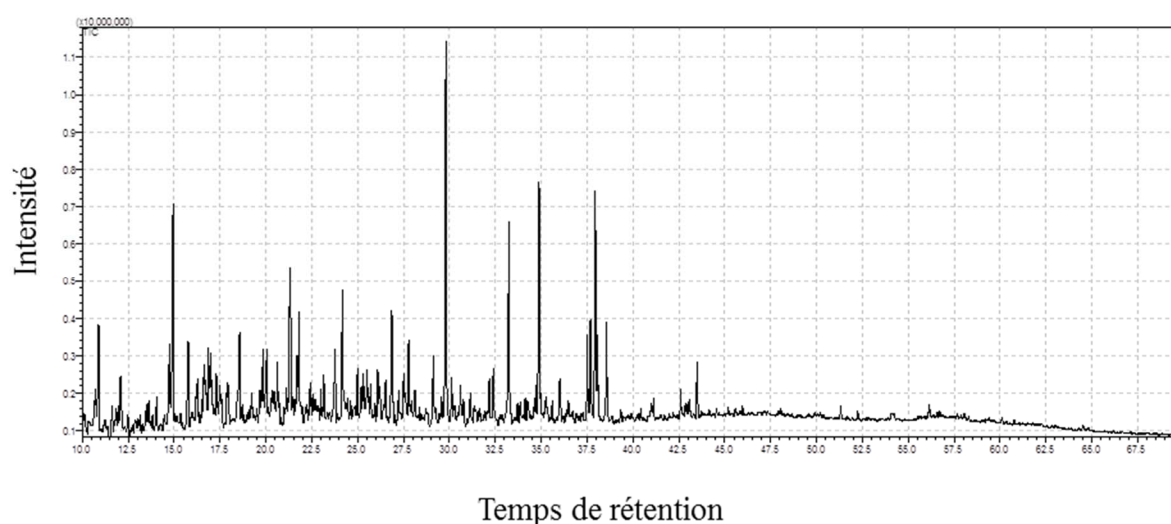


Figure 2-9 : Exemple d'un chromatogramme obtenu pour l'analyse d'un échantillon de matière organique dissoute.

Pour chaque molécule identifiée, l'intégration de son aire sur le chromatogramme n'est pas effectuée sur le chromatogramme total mais sur son fragment spécifique pour ne pas biaiser les résultats en cas de co-élutions. De ce fait, l'aire intégrée représente un seul des fragments générés lors de la fragmentation de la molécule. Afin d'avoir une estimation de son aire totale, l'aire obtenue est corrigée par le facteur MSF pour Mass Spectra Factor. Ce facteur correspond à l'inverse de la proportion du fragment d'intégration par rapport à la somme de fragments du spectre de masse moléculaire. Les molécules recherchées dans les chromatogrammes ainsi que leurs m/z et MSF sont listées dans les Tableaux 2-1 à 2-3.

Standard interne et analyses semi-quantitatives

Une analyse semi-quantitative a été possible par ajout de 10 μL de standard interne. Ce standard est une solution d'acide hydrocinnamique d9 (Sigma Aldrich) dans du méthanol à 25 $\mu\text{g/mL}$. Cette molécule a été choisie comme standard interne pour les phénols du fait de sa structure chimique proche. L'utilisation de ce standard interne implique de considérer que le rendement analytique est similaire pour l'ensemble des molécules identifiées. A partir des aires corrigées par le facteur MSF, l'utilisation du standard interne identifié par le fragment de $m/z = 110$ permet de calculer une approximation de la concentration des différentes molécules. Etant donné que la structure chimique des monosaccharides et des acides gras est différente de celle du standard interne, les concentrations calculées doivent être considérées comme une estimation approximative.

2.6 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel XLStat ou le logiciel R 2.15.3 (R Core Team). Les tests statistiques utilisés ont été choisis afin de correspondre à la spécificité des jeux de données utilisés.

Dans le Chapitre 5, des ACP ont été réalisées sur la distribution des molécules issues des acides gras ainsi que des lignines et tannins. Pour chaque échantillon, le pourcentage relatif de chaque molécule a été calculé à partir des aires de pics corrigés par le facteur MSF. Afin de limiter le nombre de variables de l'ACP, les molécules représentant un pourcentage relatif inférieur à 1% en moyenne sur l'ensemble des échantillons ont été supprimées. Le test de Pearson a par la suite permis d'éliminer les variables trop fortement corrélées. Pour un couple de molécules dont la p-value était supérieure à 0.9, la molécule représentant le pourcentage relatif le plus faible en moyenne sur l'ensemble des échantillons a été supprimé des variables. Afin d'identifier les différences statistiques entre les points d'échantillonnages, une ANOVA à un facteur a été réalisé à partir des coordonnées de chaque échantillon la composante principale 1 de l'ACP qui représente le pourcentage de variance le plus élevé. La variable explicative utilisée étant alors le point de prélèvement. Par la suite, le test de Tukey a permis de déterminer la présence de différences significatives entre les différents points de prélèvements.

Tableau 2-1 : Liste des molécules issues des lignines et des tannins identifiées sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM.

Nom	m/z	MSF
3,4-dimethoxyacetophenone (acetovanillone)	165	2,8
3,4-dimethoxybenzaldehyde (vanillin)	166	4,2
3,4-dimethoxybenzoic acid, methyl ester (acide vanillique)	196	5,6
3,4,5-trimethoxyacetophenone (acetosyringone)	195	4,8
3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde)	196	6,7
3,4,5-trimethoxybenzoic acid, methyl ester (acide syringique)	226	5,3
3-(4-methoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (acide p-coumarique)	192	6,7
3-(3,4-dimethoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (acide ferulique)	222	3,7
4-methyl-1,2-dimethoxybenzène	152	5,7
2-methyl-1,4-dimethoxybenzène	152	4,7
1,2 dimethoxybenzène	138	4,7
1,4 dimethoxybenzène	138	6,0
1,2,4-trimethoxybenzène	168	4,3
1,3,5-trimethoxybenzène	168	3,0
1,2,3 trimethoxybenzène-5-méthyl	167	7,0
3-methoxybenzoic acid methylester	135	3,9
4-methoxybenzoic acid methylester	135	2,8
1,2,3,4-tetraméthylbenzène	198	3,5
1,2,3,5-tetraméthylbenzène	198	13,5
cis-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene	194	5,1
trans-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene	194	5,1
1,2-Dimethoxy-4-(1-methoxy-1-propenyl)benzene	208	6,2
cis-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,7
trans-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,7
trans-1,2-Dimethoxy-4-(3-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,6
cis-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxyethenyl)benzene	224	7,0
trans-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxyethenyl)benzene	224	7,0
erythro-1,2-dimethoxy-4-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	181	3,6
threo-1,2-dimethoxy-4-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	181	3,6
cis-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	238	7,0
trans-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	238	7,0
cis-1,2-Dimethoxy-4-(2,3-dimethoxy-1-propenyl)benzene	238	8,5
trans-1,2-Dimethoxy-4-(2,3-dimethoxy-1-propenyl)benzene	238	8,5
erythro-1,2,3-Trimethoxy-5-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	211	2,1
threo-1,2,3-Trimethoxy-5-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	211	2,1
benzoic acid methyl ester	105	2,9

classes des monosaccharides	nom des monosaccharides	m/z	MSF
pentoses (C5)	xylose	129	4
	arabinose		
	ribose		
	lyxose		
deoxyhexoses (deoxyC6)	fucose	129	4
	rhamnose	129	4
hexoses (C6)	glucose	129	4
	mannose		
	allose		
	galactose	129	4
	gulose idose		

Tableau 2-2 : Liste des monosaccharides identifiés sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM

Tableau 2-3 : Liste des molécules issues des acides gras identifiées sur les chromatogrammes lors des analyses par HMT-CPG-SM.

Nom	m/z	MSF	Nom	m/z	MSF
C _{6:0}	74	3,1	C _{19:0}	74	4,3
C _{7:0}	74	3,1	α,ω C _{16:0}	74	11,3
C _{8:0}	74	3,0	C _{20:0}	74	4,9
C _{9:0}	74	3,6	ω-OH C _{18:0}	74	17,3
C _{10:0}	74	3,0	C _{21:0}	74	7,5
C _{11:0}	74	3,0	α,ω C _{18:0}	74	17,7
C _{12:0}	74	3,0	C _{22:0}	74	4,9
C _{13:0}	74	4,1	ω-OH C _{20:0}	74	12,9
C _{14:0}	74	3,1	C _{23:0}	74	8,4
<i>i</i> C _{15:0}	74	3,3	α,ω C _{20:0}	74	10,8
<i>a</i> C _{15:0}	74	3,3	C _{24:0}	74	4,4
C _{15:0}	74	3,3	ω-OH C _{22:0}	74	13,5
C _{16:1}	74	14,5	C _{25:0}	74	7,7
C _{16:0}	74	4,9	α,ω C _{22:0}	74	10,8
<i>i</i> C _{17:0}	74	3,9	C _{26:0}	74	4,5
<i>a</i> C _{17:0}	74	3,9	ω-OH C _{24:0}	74	13,5
C _{17:0}	74	3,9	C _{27:0}	74	5,1
C _{18:1}	74	14,6	α,ω C _{24:0}	74	9,7
C _{18:0}	74	4,5	C _{28:0}	74	4,9
ω-OH C _{16:0}	74	12,1			

Chapitre 3

Etude comparative de l'effet de la porosité et de la nature du filtre sur la composition moléculaire de la matière organique dissoute des sols et des rivières

-

A comparative study on the pore-size and filter type effect on the molecular composition of soil and stream dissolved organic matter

Ce chapitre correspond à un article publié dans la revue *Organic Geochemistry* :

Denis, M., Jeanneau, L., Pierson-Wickman, A-C., Humbert, G., Petitjean, P., Jaffrèzic, A., Gruau, G., 2017. A comparative study on the pore-size filter type effect on the molecular composition of soil and stream dissolved organic matter. Org. Geochem. 110, 36-44.

Résumé

La biogéochimie de la matière organique dissoute (MOD) joue un rôle prépondérant dans les domaines de l'écologie, de l'écotoxicologie et du cycle du carbone. La MOD est définie de manière opérationnelle comme étant la fraction de matière organique pouvant passer à travers un filtre. Étant donné que les filtres les plus communément utilisés pour ces filtrations ont une porosité variant de 0,2 à 0,7 μm , il apparaît nécessaire de tester le potentiel effet du choix de ce filtre sur la concentration et la composition de la MOD, pour permettre ainsi la comparaison de résultats provenant de différentes études utilisant des filtres de porosité et de nature différente (cellulose, fibre de verre). La concentration et la composition de la MOD a été étudiée sur des échantillons prélevés le long du continuum sol-rivière au sein d'un petit bassin versant de tête et filtrés à deux seuils de porosité différents (0,2 et 0,7 μm). En plus d'une quantification du carbone organique dissout (COD), la composition de la MOD a été déterminée par des descripteurs globaux comme des analyses spectroscopiques (absorbance UV) et isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$). Une caractérisation moléculaire qualitative et semi-quantitative de la MOD a également été réalisée par hydrolyse thermique et méthylation en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) couplée à un chromatographe gazeux et un spectromètre de masse (THM-GC-MS). Pour les descripteurs globaux, aucune différence significative n'a été détectée entre les échantillons filtrés à 0,2 et 0,7 μm . De plus, à l'échelle moléculaire, la distribution des 43 molécules étudiées n'a pas été impactée par le type de filtre utilisé. Cependant, la concentration des différentes classes moléculaires a mis en évidence une concentration faiblement plus élevée dans la fraction inférieure à 0,2 μm . Cette observation pourrait être la conséquence du « shield effect » lié à la présence de phases minérales qui, en se complexant avec de la MOD les rends non détectables lors de l'analyse moléculaire. Par conséquent, des résultats obtenus lors de différentes études portant sur la MOD et utilisant des filtres de porosité différentes peuvent être comparées. Cette similarité de la MOD observée pour les deux seuils de filtration utilisés pourrait être interprétée comme la conséquence de la déstabilisation des colloïdes contenant une phase organique par des forces de cisaillement appliquées lors de la filtration.

Abstract

Biogeochemistry of dissolved organic matter (DOM) is of main importance towards ecology, ecotoxicology and carbon cycle. DOM is operationally defined as the OM fraction that passes through filters. Since different filter pore-sizes, ranging from 0.2 to 0.7 μm , are commonly used, it is necessary to test if this choice has an effect on the concentration and composition of DOM in order to ensure the comparison between studies using different filter pore sizes and filter types (cellulose acetate vs. fibre glass). The concentration and composition of DOM was investigated along a soil-river continuum in a lowland headwater catchment using two filter pore-size (0.2 and 0.7 μm). Dissolved organic carbon (DOC) was quantified, and the DOM composition was investigated using spectroscopic (specific UV absorbance) and isotopic ($\delta^{13}\text{C}$) bulk-scale descriptors and semi-quantitative molecular analysis by thermally assisted hydrolysis and methylation with tetramethylammonium hydroxide coupled to a gas chromatography and mass spectrometry (THMGC-MS). No significant differences were detected between DOM $< 0.2 \mu\text{m}$ and DOM $< 0.7 \mu\text{m}$ for bulk scale descriptors. Moreover, at the molecular scale, the distribution of the 43 targeted compounds was not impacted. However their concentration were slightly higher in the $< 0.2 \mu\text{m}$ fraction. This could be due to a shield effect of mineral phases in the $< 0.7 \mu\text{m}$ fraction implying a decrease of their recovery. Consequently, the DOM studies using 0.7 and / or 0.2 μm filters can be compared. This similarity between those two pore-sizes is suggested to be due to the breakup of colloids by shear forces applying locally during filtration performed at 0.2 μm .

1. Introduction

Dissolved organic matter (DOM) is a dynamic and important part of the carbon cycle and essential for the understanding of soil properties and functioning (Kalbitz et al., 2000). Due to its properties of complexation, DOM acts as a carrier phase, being involved in the mobility, degradation and bioavailability of micropollutants at the landscape scale (Neale et al., 2011). At the catchment scale, the main contributors to the transfer from soils to rivers are the headwater areas (Ågren et al., 2007), in which DOM comes mainly from riparian wetlands connected to streams by water tables (Morel et al., 2009). As a consequence, it is necessary to investigate both stream and soil DOM to understand transfers along the soil-river continuum. However, despite the fact that DOM has been studied for a long-time, its physical definition remains unclear.

The term “dissolved” does not refer to its chemical state since DOM is operationally defined by the filter pore-size used to isolate it from the particulate phase. This may result in concentration and compositional shifts since different filter pore-size, namely 0.2, 0.45 and 0.7 μm , are used in DOM studies. The filtration at 0.45 μm was initially selected because it corresponds roughly to the upper limit size of viruses and the lower limit of bacteria. However, some prokaryotes can be smaller than 0.45 μm and so filtration at 0.2 μm was recommended for studies where all microbiota have to be removed from samples (Krieg, 2005). However, a drawback of 0.45 and 0.2 μm filters is that they are made of organic material such as cellulose acetate, which can induce contamination problems, leading a part of the DOM research community to use 0.7 μm glass fibre filters. Moreover, the boundaries between particulate, colloidal and dissolved fractions remain unclear. The international union of pure and applied chemistry (IUPAC) defines colloids as “molecules or polymolecular particles dispersed in a medium which have at least in one direction a dimension roughly between 1 nm and 1 μm ”. As with the isolation of the dissolved phase, colloids are operationally defined, and the fraction of colloids in the dissolved fraction depends on the filter pore-size. Since colloids are complex supramolecular architectures bounded by weak forces and composed of mineral and metallic phases, natural organic matter, cations and anions (Gu et al., 1994), their occurrence in the dissolved phase may modify the concentration and the composition of DOM. Consequently, the possibility to compare results from studies using different filter pore-sizes is uncertain.

This problem has been explored by Nimptsch et al., (2014) who compared the influence of filter type and porosity on freshwater DOM composition using spectroscopic analyses. They observed a small but significant effect on chromophoric DOM composition between samples filtered with 0.7 μm and 0.2 μm filters and interpreted it as a filter type effect. However, this difference did not seem to be systematic. On the other hand, Zsolnay, (2003) found no differences in dissolved organic carbon concentration (DOC), UV absorption or fluorescence emission between samples from hydrosphere, soil extracts and leachates filtered at 0.4 μm and 0.6 μm . Gandois et al. (2010) also compared concentration and UV spectroscopic data for throughfall samples filtered at 1.2 μm and 0.2 μm and found no significant differences.

Sanderman et al. (2008) compared samples filtered at 0.7 μm and 0.45 μm , and found no differences for DOC concentration, $\delta^{13}\text{C}$ and $\Delta^{14}\text{C}$. Therefore, it seems that the filter pore-size has no effect on DOC concentration, bulk scale descriptors and DOM composition determined by optical properties. However, to our knowledge, no study has yet investigated the potential effect of filter pore-size on the DOM molecular composition analysed using THM-GC-MS.

In contrast with the above bulk descriptors and DOM optical properties, molecular tools allow to target specific compounds, often representing only a very small proportion of the total DOM and whose removal or non-removal during filtration could profoundly change the measured molecular composition of DOM. Moreover, because of this low proportion, some of these molecular compounds could be also more sensitive to filter contamination than bulk DOM descriptors. As suggested by McDowell (2003), the use of molecular tool to investigate DOM is increasingly used to develop detailed characterization of DOM constituents as for investigation of DOM composition at the seasonal and event scales (Jeanneau et al., 2015, 2014) or in different ecosystems (Frazier et al., 2003). For all these reasons, it is important to ensure that the potential effect of filter pore-size and filter composition have essentially no effect on the DOM molecular composition.

Given that filter type and porosity can introduce a bias in molecular DOM characterization, this may affect the comparability between studies that used different filtration parameters. Considering this problem, our study investigated two different filtrations using different filter types (cellulose acetate and glass fiber) and porosity (0.2 μm and 0.7 μm). DOM was quantitatively characterized by the DOC concentration and qualitatively by spectroscopic and isotopic bulk-scale descriptors (specific UV absorbance at 254 and 280 nm

and $\delta^{13}\text{C}$). The molecular composition was investigated by thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) coupled to gas chromatography (GC) and mass spectrometry (MS).

2. Material and methods

2.1 Sampling and sample preparation

Samples were collected in the Kervidy-Naizin catchment (Fig. 3-1). This 4.9 km² lowland catchment is located in central Brittany, western France. It belongs to the French Environmental Research Observatory (ORE) AgrHyS that is the place of a long-term monitoring research program aimed at understanding the impact of agricultural intensification and climate change on hydrologic processes and water quality. This catchment benefits from a well-known hydrologic and biogeochemical context and has already been the subject of numerous investigations of the sources and dynamics of both soil and stream DOM (Aubert et al., 2013; Jeanneau et al., 2015, 2014; Lambert et al., 2014, 2013, 2011; Morel et al., 2009).

The samples were collected during hydrological year 2013/2014 from October to December 2013 at different locations on the catchment. The dataset is composed of stream waters and soil solutions to cover the soil-river continuum. Stream waters were sampled manually at four distinct locations and stored in 1 L glass bottles. Soil solutions were collected at three distinct locations in the catchment: (i) Kerolland transect; upslope, midslope and downslope; from 15 to 100 cm depth (ii) Gueriniec transect; upslope and downslope; from 15 to 50 cm depth (iii) Mercy wetland; from 10 to 55 cm depth (Supplementary Table 3-S1). A pumping system applied to zero-tension lysimeters and piezometers allowed us to collect soil solutions which were stored in 1 L glass bottles and transported to the laboratory in the dark before filtration within 24 h after sampling. Since samples were highly concentrated in suspended matter, a first filtration was performed using 0.7 μm glass fiber filters (Sartorius, Germany). Then, an aliquot of the filtrate was further filtered using 0.2 μm cellulose acetate filter (Sartorius, Germany). Both fractions came from the same sample. Since 0.2 μm filters are made of cellulose acetate, they were rinsed with 0.5 L of ultrapure water to prevent any release of carbon. This volume was previously determined to reach analytical blank values for DOC measurements.

Additionally, soil solutions and stream waters were collected once a week during hydrological year 2013/2014 for a long-time monitoring program. The samples collected from October to December 2013 have been used to calculate background levels of DOC and UV measurements in order to identify outliers.

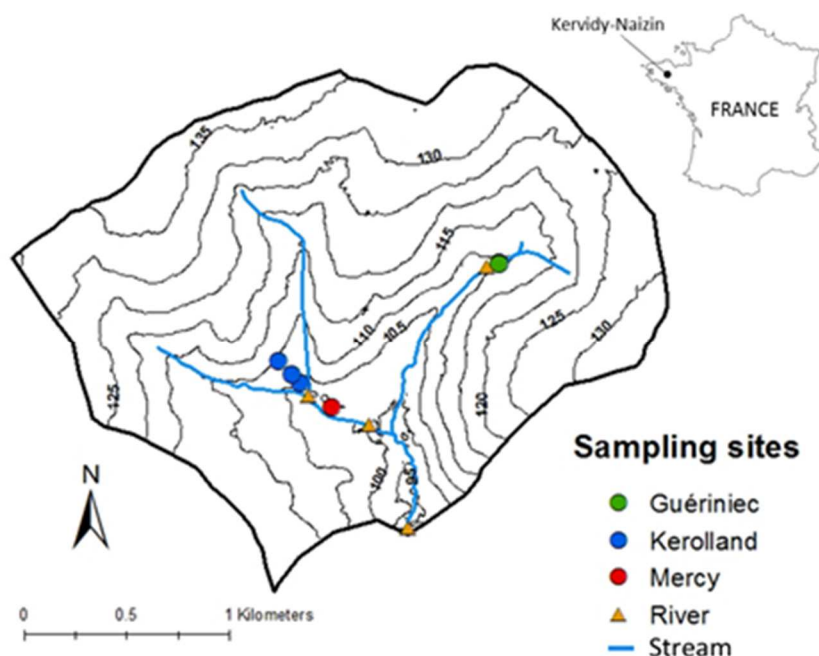


Figure 3-1: Map of the Kervidy-Naizin catchment (Brittany, France) and location of the sampling sites

2.2 Analytical methods

Specific UV absorbance at 254 nm, 280 nm and DOC concentration were investigated on a dataset composed of 42 samples (17 soil solutions and 25 stream waters). The number of samples used to compare the molecular and isotopic compositions was constrained by the amount of matter necessary to perform these analyses (1.5 mg of organic carbon) and the available volume. Molecular and isotopic analyses were performed on 18 samples (4 soil solutions and 14 stream waters) (Supplementary Table 3-S1).

2.2.1 DOC concentration and UV-visible spectroscopic data

DOC concentrations were determined using a Shimadzu TOC-5050A total carbon analyser. Ultra-violet absorbance measurements were performed at the two commonly

investigated wavelengths: 254 nm and 280 nm (Bu et al., 2010; Scheel et al., 2008; Weishaar et al., 2003). These absorbance values (Abs_{254} ; Abs_{280}) are used to calculate Specific UV absorbance (SUVA), which corresponds to the UV absorbance of a water sample at a given wavelength normalized for DOC concentration, denoted hereafter as $SUVA_{254}$ or $SUVA_{280}$ and expressed in L/mgCm. The precision of DOC and SUVA measurements is estimated to be $< \pm 5\%$ based on the repeated analyses of sample and standard solutions.

2.2.2 Isotopic data

Carbon isotopic analyses ($\delta^{13}C$) were performed at the Stable Isotope Laboratory of the PEGASE Join Research Unit of the INRA in Saint-Gilles, France, on sample solutions first acidified with 1 mL/L of 1N HCl to remove dissolved inorganic carbon and then freeze-dried. Carbon isotopic measurements were determined using an elemental analyser (EA-CE 1500 NA, Carlo Erba) interfaced with an isotope ratio mass spectrometer (VG Isoprime). The $\delta^{13}C$ values correspond to the relative variation between the measured $^{13}C/^{12}C$ ratio and the $^{13}C/^{12}C$ ratio of the internal standard Vienna Pee Dee Belemnite (PDB).

2.2.3 Molecular data

For molecular analyses, samples were prepared as follows. Approximately 2 mg of lyophilisate and 10 mg of tetramethylammonium hydroxide (TMAH) are introduced in a reactor and placed in a vertical microfurnace pyrolyser PZ-2020D (Frontier Laboratories). To allow TMAH reaction, pyrolysis was made at 400 °C for 1 min. Gases produced were injected directly into a GC-2010 (Shimadzu, Japan) equipped with an SLB 5MS capillarity column (60 m, 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness) with a split mode (set between 10 and 15). The temperature of the transfer line was 321 °C, and the temperature of the injection port was 310 °C. The oven temperature started at 50 °C (held during 2 min) and rose to 150 °C at 15 °C/min, then from 150 °C to 310 °C (held for 14 min) at 3 °C/min. Helium was used as carrier gas with a flow rate of 1.0 mL/min. After separation by GC, compounds were detected by a mass spectrometer QP2010+MS (Shimadzu, Japan) operating in the full-scan mode from m/z 50 to m/z 600. The transfer line was set at 280 °C and molecules were ionized by electron impact using an energy of 70 eV, and an ionization source temperature set at 200 °C. Molecules were identified by comparison of their full-scan mass spectra with the National

Institute of Standards and Technology (NIST) library and published papers (Grasset et al., 2009; Nierop et Verstraten, 2004).

The target molecular compounds in this study were lignin markers (LIG), fatty acids (FA) and carbohydrates markers (CAR). Qualitative measurements were performed using the appropriate m/z for each compound and by integrating and correcting peak area by a mass spectra factor (MSF) (Supplementary Table 3-S2) which correspond to the reciprocal of the proportion of the fragment used for integration and the entire fragmentogram of the NIST library. Using THM-GC-MS implies that it is necessary to assume that ionization efficiency is independent from matrix effects for all analyzed compounds.

Three samples were analyzed in triplicate to quantify the reproducibility of the analysis. The mean relative standard deviation expressed in percentage (%RSD) based on these three analyses were calculated for each molecular parameter. The global uncertainty is $\pm 20\%$ and corresponds to the mean of the %RSD obtained for each molecular parameter.

Semi-quantitative analyses were performed by adding 10 μL of a solution of hydrocinnamic acid d9 (Sigma-Aldrich) in methanol (25 $\mu\text{g/mL}$). This molecule was used as an internal standard for LIG thank to its similar chemical structure. Using MSF corrected areas of internal standard and assuming similar analytical efficiency for all target compounds, an approximation of the concentrations of the analyzed markers was proposed. Since the chemical structure of CAR and FA are different from the internal standard, their concentrations must be considered as rough estimations.

2.3 Data treatment and statistical analyses

In this study, parameters usually used in molecular analyses were investigated to test if different pore-sizes and filter types can result in shifts in the molecular fingerprints of soil and stream DOM. Lignin markers (LIG) are classified in three main groups: vanillic (V) units (vanillic acid, vanillaldehyde and acetovanillone), syringic (S) units (syringic acid, syringaldehyde and acetosyringone) and coumaric (C) units (coumaric acid and ferulic acid). Their relative proportions were investigated using the ratio of coumaric to vanillic units (C/V), and of syringic to vanillic units (S/V) which can be used to determine plant sources (Hedges et Mann, 1979) or lignin degradation state (Kögel, 1986). Among the fatty acids (FA) detected with THM-GC-MS, some are from microbial inputs ($\text{C}_{13:0}$; $\text{C}_{14:0}$; *iso* and *anteiso* $\text{C}_{15:0}$; $\text{C}_{15:0}$; *br* $\text{C}_{16:0}$; $\text{C}_{16:1}$; *iso* and *anteiso* $\text{C}_{17:0}$; $\text{C}_{18:1}$). FA with more than 19 C atoms

are mainly plant-derived (Frostegard et al., 1993; Matsuda et Koyama, 1977), while C_{16:0} and C_{18:0} can be derived from both microbial and plant origins (Jeanneau et al., 2014). Using this procedure, the percentage of microbial fatty acids (%FA_{mic}) was estimated (Jeanneau et al., 2015) and can be used as an indicator of microbial activity. Three pairs of permethylated deoxy aldonic acids were produced during the THM of polysaccharides and free monosaccharides (Fabbri et Helleur, 1999), and those CAR were classified into three main classes: pentose (C5), hexose (C6) and deoxyhexoses (deoxyC6). For the samples analysed in this study, deoxyhexoses could not be analysed due to contamination of samples by the bactericide used during the industrial process for manufacturing aluminium trays used for the freeze-drying step. The CAR distribution was investigated using the C6/C5 ratio which is used as an indicator for microbial or plant origin (Rumpel et Dignac, 2006). Relative percentages of each molecular classes (%LIG; %FA; %CAR) were measured by dividing the sum of the MSF-corrected peak area of the compounds in this class by the sum of peak area of all the classes.

Potential outliers were identified using the box plot representation performed using XLSTAT 2013 (Addinsoft). Samples were considered as potential outliers if they were out of the interval defined by $[Q1 - 2 * (Q3 - Q1); Q3 + 2 * (Q3 - Q1)]$ where Q1 is the value of the first quartile and Q3 is the value of the third quartile. If potential outliers were detected, values obtained for $< 0.2 \mu\text{m}$ and $< 0.7 \mu\text{m}$ fractions were compared to the weekly sampling dataset when this extended dataset could be used. When comparison to the weekly dataset allowed us to confirm the presence of an outlier, this sample was removed to perform the next statistical analysis.

Statistical analyses were performed using the software R 2.15.3 (R Core Team). Given that paired differences followed normal distributions (significant level at 0.05), the difference between the two filtration modes was tested by performing a paired t-test with a confidence level of 95%. Firstly, differences between values measured on samples filtered at 0.2 and 0.7 μm were determined. Then, if the 95% confident interval defined around the mean of the differences contain 0, the two datasets were not considered as statistically different. This is quantified by the *p*-value which indicates no significant differences between the two filtration modes if > 0.05 .

3. Results

3.1 Bulk DOM descriptors (DOC, SUVA, $\delta^{13}\text{C}$)

Among the 42 analyzed samples (17 soil solutions and 25 stream waters), the concentrations of DOC ranged from 2.2 to 44.4 and 1.6 to 15.7 mg/L in soil solutions and stream waters respectively (Table 3-1). The mean of the differences was -0.39 mg/L (Fig. 3-2A). Four samples (number 3, 4, 12 and 13, Supplementary Table 3-S1) were identified as potential outliers by the box plot representation. By comparison with the weekly sampling dataset from October to December 2013, only sample 12 is confirmed to be an outlier as the concentration of the < 0.7 μm fraction (13.4 mg/L) was greatly higher than the concentration usually observed (2.1 to 4.2 mg/L), probably due to analytical bias. Consequently, this sample was removed from the dataset for the next statistical analysis. The p -value of the paired t-test was > 0.05 (Table 3-1) indicating no significant differences between the two filter types.

In the present study, SUVA_{254} ranged from 1.7 to 5.2 L/mgCm and 2.4 to 5.0 L/mgCm for soil solutions and stream waters, respectively (Table 3-1). The mean of the differences was 0.07 L/mgCm (Fig. 2B). SUVA_{280} ranged from 1.3 to 4.3 L/mgCm and 1.8 to 4.1 L/mgCm for soil solutions and stream waters, respectively (Table 3-1). The mean of the differences was 0.05 L/mgCm (Fig. 2C). One sample (number 30, Supplementary Table 3-S1) for SUVA_{254} and two samples (numbers 30 and 39, Supplementary Table 3-S1) for SUVA_{280} were identified as potential outliers by the box plot representation. By comparison with the weekly sampling dataset from October to December 2013, sample number 30 for SUVA_{254} and both sample numbers 30 and 39 for SUVA_{280} were confirmed to be outliers as values measured for the < 0.7 μm fractions were higher than the values usually measured, probably due to analytical bias. Consequently, these samples were removed from the dataset for the next statistical analysis. The p -values of the paired t-tests performed for SUVA_{254} and SUVA_{280} were > 0.05 (Table 3-1) indicating no significant differences between the two filter types.

Values of carbon isotopic data ($\delta^{13}\text{C}$) ranged from -29.2 to -26.7 ‰ (Table 3-1). The mean of the differences was 0.04‰ (Fig. 3-2D). No outliers were identified in the dataset. The p -value of the paired t-test (Table 3-1) indicates no significant differences between the two filter types.

Table 3-1: Number of samples, minimal, maximal and mean value of the dataset for each parameter and *p-value* of the paired t-test. A *p-value* > 0.05 indicate no significant differences.

parameter	number of samples	minimal value		maximal value		mean		<i>p-value</i>
		0.2 μm	0.7 μm	0.2 μm	0.7 μm	0.2 μm	0.7 μm	
DOC (mg.L ⁻¹)	41	1,7	1,6	38,8	44,4	10,0	10,4	0,176
SUVA ₂₅₄	40	1,7	2,2	4,8	5,2	3,3	3,4	0,936
SUVA ₂₈₀	39	1,3	1,8	4,0	4,3	2,6	2,6	0,396
$\delta^{13}\text{C}$	15	-29,0	-29,2	-26,9	-26,7	-28,0	-28,1	0,774
%LIG	17	20	19	62	61	41	39	0,271
%FA	17	26	27	73	76	48	50	0,509
%CAR	17	5	5	18	21	11	11	0,458
C/V	18	0,05	0,03	0,73	0,70	0,24	0,26	0,286
S/V	18	0,30	0,30	0,62	0,66	0,45	0,46	0,118
LIG (mg.gDOC ⁻¹)	18	1,2	0,3	3,7	4,3	2,1	1,9	0,539
%FA _{mic}	18	87	81	96	95	92	90	0,11
FA (mg.gDOC ⁻¹)	18	0,9	0,7	9,0	8,7	3,4	3,0	0,516
C6/C5	17	0,5	0,5	1,7	2,4	1,0	1,1	0,197
CAR (mg.gDOC ⁻¹)	17	0,1	0,1	3,0	1,8	0,9	0,7	0,266

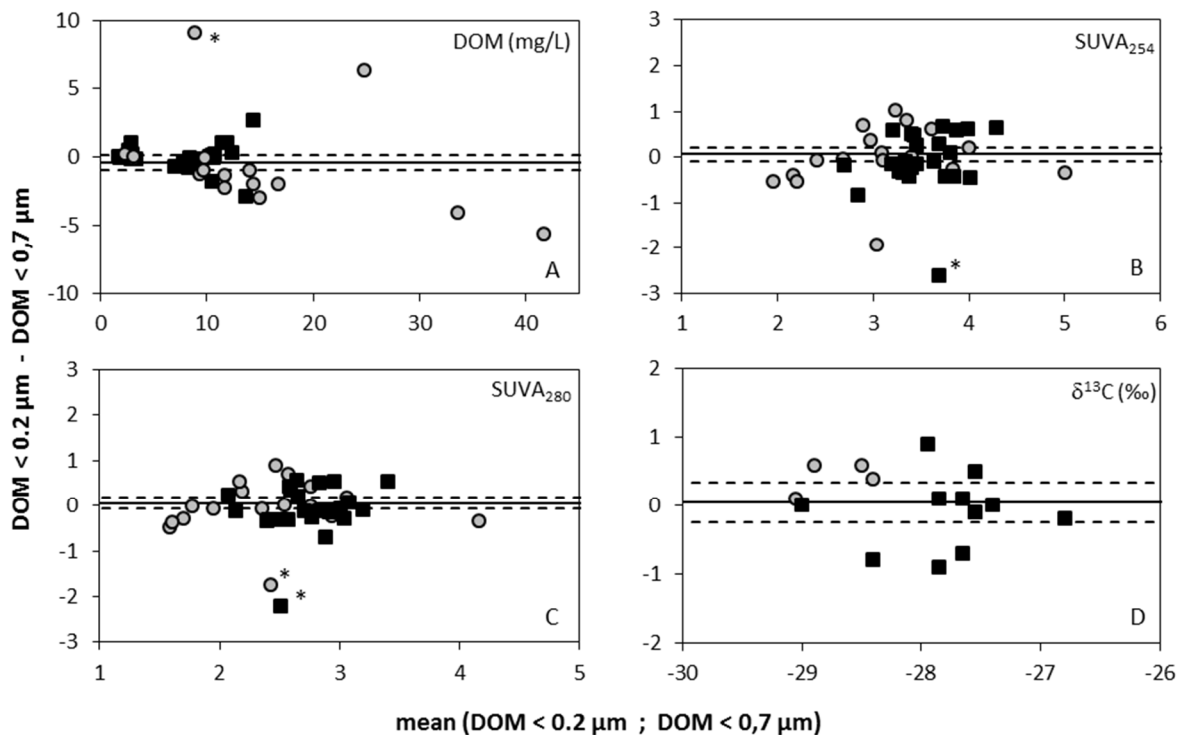


Figure 3-2: Graphical representation of the difference between DOM<0.2 μm and DOM<0.7 μm as a function of their mean for DOC concentration, spectroscopic and isotopic parameter, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean. * indicate values defined as outliers and excluded from the dataset used to perform the paired t-tests.

3.2 Molecular data

The molecular composition of DOM was investigated for 18 samples (4 soil solutions and 14 stream waters) by THM-GC–MS. The identified compounds were classified by their chemical structure into three classes: LIG, FA and CAR. Their relative proportions among the identified compounds were investigated for the two filtration processes.

%LIG, %FA and %CAR ranged from 19 to 62%, from 26 to 76% and from 5 to 21% respectively (Table 3-1). The means of the differences were 2.2%, –1.7% and –0.8% for %LIG, %FA and %CAR respectively (Fig. 3-3). One sample (number 34, Supplementary Table 3-S1) was identified as a potential outlier by the box plot representation for %FA. Weekly sampling dataset cannot be used to determine its outlier status since this sampling point was not investigated for its molecular composition in the long-term monitoring program. Consequently, this point was preserved for the next statistical analysis. The *p*-values of the paired t-tests (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

In the present dataset, LIG were characterized by C/V values ranging from 0.03 to 0.12 for soil DOM and from 0.08 to 0.73 for stream DOM (Table 3-1) and the mean of the differences was –0.02 (Fig. 3-4A). S/V ranged from 0.30 to 0.37 for soil DOM and from 0.39 to 0.66 for stream DOM (Table 3-1) and the mean of the differences was –0.02 (Fig. 3-4B). Two samples (numbers 35 and 36, Supplementary Table 3-S1) for C/V and one sample (number 35, Supplementary Table S1) for S/V were identified as potential outliers by box plot representation. These samples are stream waters sampled at the outlet during a storm event. As these particular conditions are known to impact both C/V and S/V ratios (Dalzell et al., 2005; Hernes et al., 2008; Jeanneau et al., 2015), it was not possible to compare these values to those recorded for the weekly sampling dataset. Consequently, these samples were preserved for the next statistical analysis. The *p*-values of the paired t-tests (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

Values of LIG concentrations ranged from 0.7 to 2.4 mg/gDOC for soil solutions and from 0.3 to 4.3 mg/gDOC for stream waters (Table 3-1). The mean of the differences was 0.15 mg/gDOC (Fig. 3-4C). No outliers were identified in the dataset. The *p*-value of the paired t-test (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

The proportion of microbial FA calculated in this study (%F_{Amic}) ranged from 90% to 96% for soil solutions and from 81% to 95% for stream waters (Table 3-1). The mean of

the differences was 1.9% (Fig. 3-5A). No outliers were identified in the dataset. The *p*-value of the paired t-test (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

Concentration estimations for FA ranged from 0.8 to 3.3 mg/gDOC for soil solutions and from 0.7 to 9.0 mg/gDOC for stream waters (Table 3-1). The mean of the differences was 0.5 mg/gDOC (Fig. 3-5B). Two samples (numbers 36 and 42, Supplementary Table 3-S1) were identified as potential outliers by the box plot representation. By comparison with the sampling dataset from October to December 2013, sample 36 was not confirmed to be an outlier, and this dataset cannot be used to confirm the outlier status of sample 42. Consequently, these two samples were preserved for the next statistical analysis. The *p*-value of the paired t-test (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

Two carbohydrates classes were identified in the present samples: C5 (pentoses) and C6 (hexoses). The C6/C5 ratio values ranged from 0.5 to 1.1 for soil solutions and from 0.5 to 2.4 for stream waters (Table 3-1). The mean of the differences was -0.1 (Fig. 3-6A). No outliers were identified in the dataset. The *p*-value of the paired t-test (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

The THM-GC-MS technique used in this study allowed to measure only the terminal monosaccharides of the polysaccharides chains, and free monosaccharides. As a consequence, the carbohydrates semi-quantification performed in this study is only an estimation of these specific monosaccharides. Soil solution samples are characterized by concentrations ranging from 0.2 to 0.7 mg/gDOC, and concentration of stream water samples range from 0.1 to 3.0 mg/gDOC (Table 3-1). The mean of the differences was 0.2 mg/gDOC (Fig. 3-6B). One sample (number 42, Supplementary Table 3-S1) was identified as a potential outlier by the box plot representation. This sample was a stream water sampled in Kerolland river. The weekly sampling dataset cannot be used to determine outliers since this sampling point was not investigated for its molecular composition in the long-term monitoring program. Consequently, this point was preserved for the next statistical analysis. The *p*-value of the paired t-test (Table 3-1) indicate no significant differences between the two filter types.

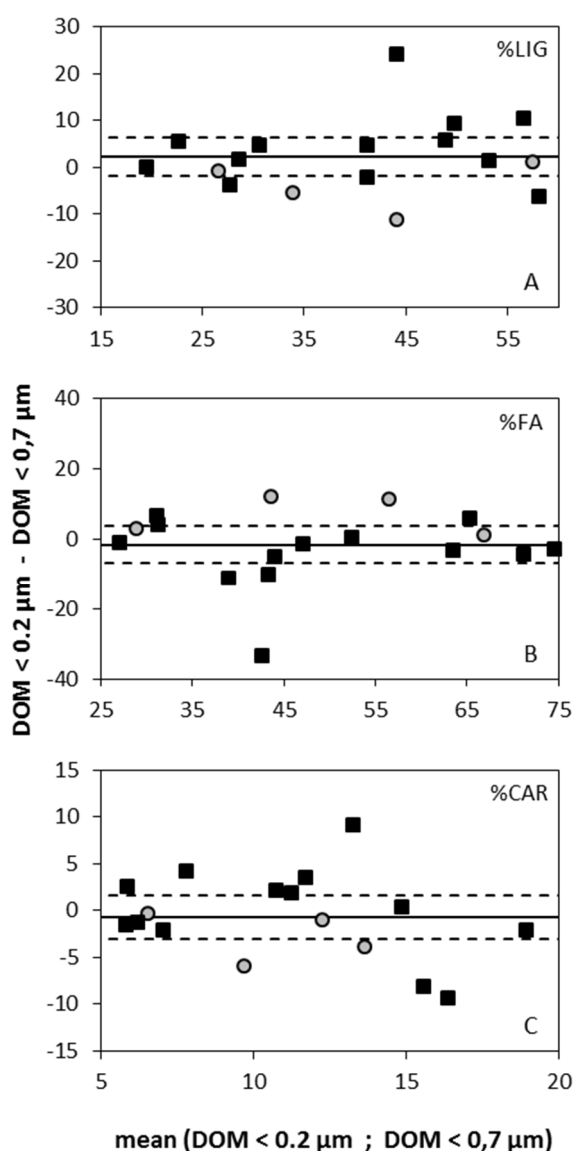


Figure 3-3 : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for %LIG, %FA and %CAR, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean.

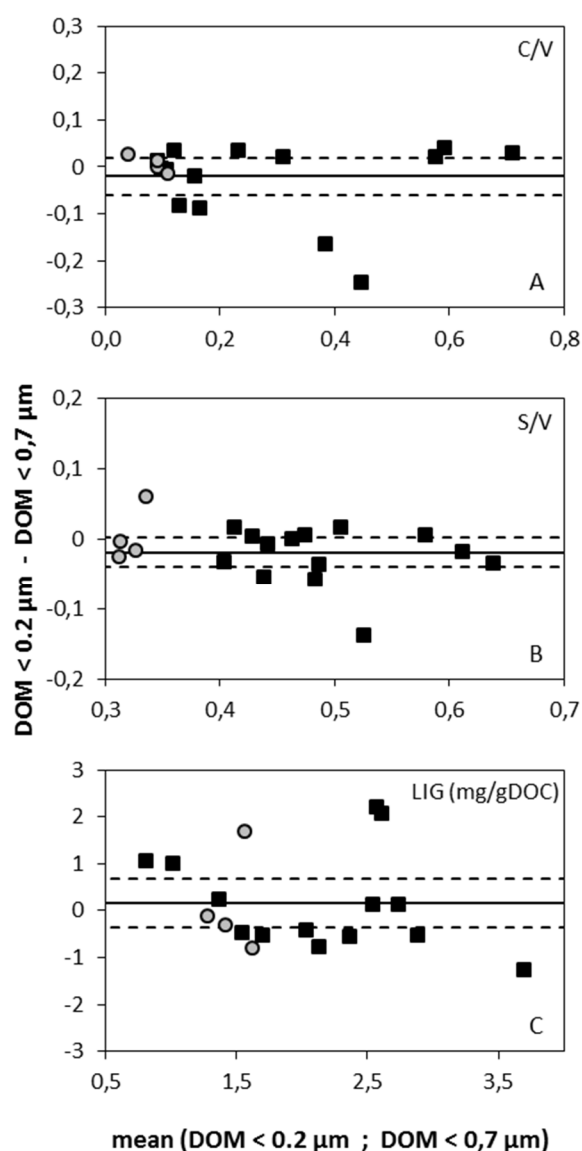


Figure 3-4 : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for C/V, S/V and LIG concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean.

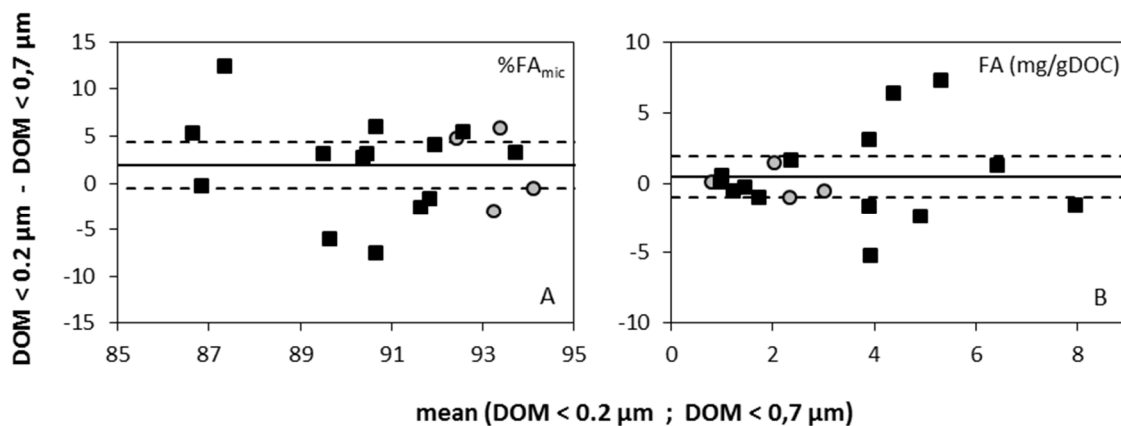


Figure 3-5 : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for %FA_{mic} and FA concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean.

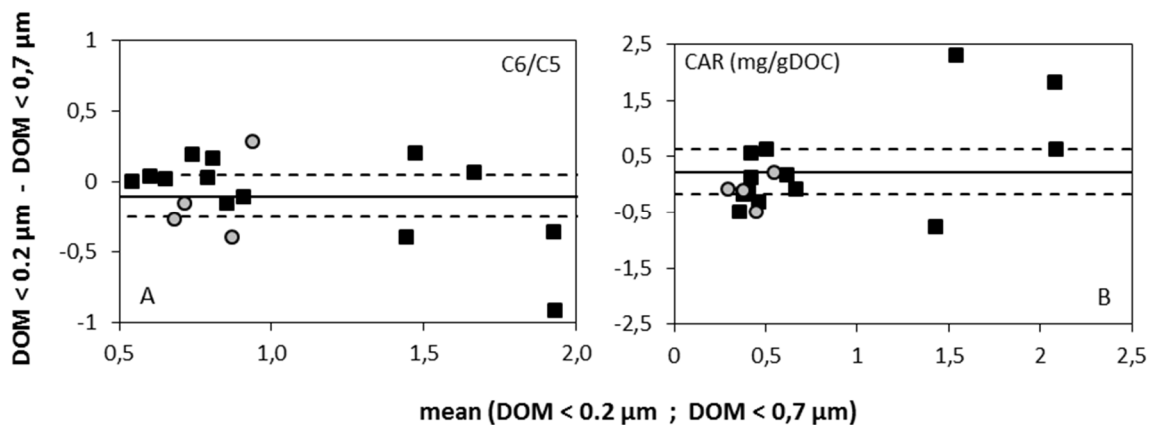


Figure 3-6 : Graphical representation of the difference between DOM < 0.2 μm and DOM < 0.7 μm as a function of their mean for C6/C5 and CAR concentration, and for soil solutions (grey dots) and stream waters (black squares). For each parameter, the full line represents the mean of the differences and dashed lines define the 95% confident interval around the mean.

4. Discussion

4.1 Is there a filter effect on bulk-scales descriptors?

The question of the influence of filter type and pore-size on bulk-scale descriptors have been previously investigated for DOC concentration (Gandois et al., 2010; Zsolnay, 2003), and spectroscopic (Nimptsch et al., 2014) and isotopic parameters (Sanderman et al., 2008). These studies reached the same conclusion of no significant effect, or significant but small filtration effect. This point was also investigated in the present study to confirm these observations before analyzing DOM at the molecular scale. The range of values obtained for these parameters are in accordance with values previously measured in soil and stream waters for the studied catchment (Jeanneau et al., 2015, 2014; Lambert et al., 2014, 2013, 2011; Morel et al., 2009) and similar catchments worldwide (Sanderman et al., 2008).

Results on bulk-scale descriptors show no significant effect of the pore-size or composition of filters, with the exception of one sample for DOC concentration and two samples for SUVA values (Fig. 3-2). However, these samples were not the same for DOC and SUVA measurements. Moreover, by comparison with data from the same sites and sampled during the same hydrological period those points were defined as outliers. Consequently, the absence of a filtration effect on bulk-scale descriptors allowed us to investigate the potential filtration effect on DOM molecular analysis by THM-GC-MS.

4.2 Is there a filter effect on molecular composition?

Present-day challenges in DOM biogeochemistry include a better understanding of their sources and sinks (Nguyen et Hur, 2011). The development of molecular tools to probe the composition of DOM allows the determination of thousands of individual formulae by FT-ICR-MS (Koch et al., 2005) or the identification of individual compounds implied in natural macromolecules such as lignins, carbohydrates and fatty acids by THM-GC-MS (Challinor, 2001). Those analyses lead to a mine of information. However, since those compounds are at trace levels, the use of molecular tools requires more attention to potential contamination. It is necessary to determine the absence of filtration effects to allow the comparison of different studies.

In the present study, the distribution of 43 target compounds was investigated through the relative proportion of three classes of compounds (LIG, FA and CAR) and molecular ratios. As revealed by the paired t-tests, filter type and porosity had no significant effect on the distribution of the three classes of compounds and molecular ratios analyzed in this study.

Pseudo-quantitative analysis was performed by the addition of hydrocinnamic acid d9 as an internal standard allowing the estimation of the concentration of each individual compound. In order to test the potential effect of filter type and porosity on this pseudoquantitative analysis, the concentration of the three classes of compounds (LIG, FA, CAR) was investigated. For those three classes, the mean of the differences are slightly higher than 0 (Fig. 3-4A, 3-5B, 3-6B), which implies that concentrations measured on samples filtered at 0.2 μm were higher than those measured in the same sample filtered at 0.7 μm . Since 0.2 μm filters are made of organic material, a hypothesis to explain those differences could be the contamination of the samples by the filters. However, 0.2 μm filters are made of cellulose acetate, and cellulose is a polymer of glucose (i.e. a hexose). Such a contamination would increase: (i) the concentration of CAR, (ii) the C6/C5 ratio and (iii) the %CAR. However, higher concentrations in the < 0.2 μm fraction were also recorded for LIG and FA. No significant variations of the C6/C5 ratio were recorded (Fig. 3-5A), and the distributions between %LIG, %FA and %CAR (Fig. 3-3) were not affected by the different filtration modes. Moreover, the samples that present the most important differences between the two filtration modes were not the same for each quantitative parameter. All these observations allow us to invalidate the hypothesis of a contamination by cellulose acetate filters rinsed with 500 mL of ultrapure water.

A second hypothesis that could explain the difference in terms of concentration between the two filtration modes could be an analytical bias due to the sorption of organic molecules on mineral surfaces. This interaction between organic matter and mineral surfaces, called the shield effect, is known to impact the analytical efficiency of lignin phenols by the alkaline CuO oxidation (Hernes et al., 2013). In samples filtered at 0.2 μm , a larger fraction of the mineral phases was removed compared to samples filtered at 0.7 μm . Thus, the ratio OM to mineral phases increased, which could induce a slightly higher analytical efficiency.

The use of filters with different composition or porosity does not significantly affect the distribution of the different target molecules analyzed by THM-GC-MS, and only slightly impact the estimation of their concentrations. As a consequence, it seems reasonable to prefer the use of 0.7 μm glass fiber filters to prevent any contamination. Moreover, the realization of

one single filtration step at 0.7 μm instead of two successive filtration steps allows one to reduce analytical cost and environmental impact due to the saving of 500 mL of ultrapure water required to pre-wash 0.2 μm filters.

4.3 A gap in the POM-DOM continuum?

In the POM–DOM continuum (Verdugo et al., 2004), the transition between POM and DOM was operationally defined at 0.45 μm . At this cutoff threshold, OM is implied to be present as colloids. According to this idea of a continuum, there should be a decrease in DOC concentrations between the $< 0.7 \mu\text{m}$ and the $< 0.2 \mu\text{m}$ fractions. However, no significant differences were observed for DOC concentrations (Fig. 3-2A), which is commonly described (Sanderman et al., 2008; Zsolnay, 2003). Two hypothesis could be considered: (i) the absence of colloids between 0.2 and 0.7 μm or (ii) the absence of OM in the colloids occurring in this size range. Filella et Buffle, (1993) or Atteia et Kozel, (1997) report that colloids have been identified in this range in surface waters (river, lake) and groundwaters by different analytical techniques. Moreover, in this present study, the coloration of 0.2 μm filters after the filtration step suggested the retention of material larger than 0.2 μm (data not shown). As a consequence, the colloids retained by the 0.2 μm filters did not contain OM, which would represent a gap in the POM–DOM continuum between 0.7 and 0.2 μm . How can this apparent gap be explained?

This apparent lack of OM between 0.2 and 0.7 μm could be due to the nature and dynamics of supramolecular associations building up colloids. Colloids are composed of a combination of inorganic matter (e.g., metal oxyhydroxides, clays, calcium carbonates) and organic matter (e.g., lignins, tannins, fatty acids, polysaccharides, proteins etc) (Gaillardet et al., 2003) bound together by weak interactions (Kleber et Johnson, 2010). Colloids are characterized by high specific surface areas and a strong sorption capacity, which made them highly reactive (Stumm, 1993). Their size distributions depend on the nature of the sample, and could change over time, especially after sampling, when samples are transferred from an open and natural system to a closed one (e.g., sampling bottles) (Buffle et Leppard, 1995). The smallest particles coagulate to form larger ones and the largest settle down, resulting in a narrowing of the distribution of colloids (Filella et Buffle, 1993). However the cohesive forces that build up larger colloids can easily be broken by manual shaking (Esfahani et al., 2015). During the filtration process, the behaviour of weakly aggregating colloids depends on

the equilibrium between cohesive and disruptive forces (Wolthers, 1996) and especially shear forces (Tolpekin et al., 2004). The shear forces occurring during the normal filtration at 0.2 μm may have resulted in the breakup of colloids. Then during the second filtration step, colloids $< 0.2 \mu\text{m}$ passed through the filter, while colloids $> 0.2 \mu\text{m}$ were broken up by shear forces and passed through the filter. The retentate was composed of mineral matter $> 0.2 \mu\text{m}$. As a consequence, OM may occur in the fraction between 0.2 and 0.7 μm , but apparently in colloids whose cohesive forces are not strong enough to resist the normal filtration process. Tangential filtration, by decreasing shear forces, could minimize the breakup of colloids and could be more appropriate to investigate the fate of OM along the POM–DOM continuum.

5. Conclusion

The potential impact of two different filter types (cellulose acetate or glass fiber) and filter pore-size (0.2 μm or 0.7 μm) used for DOM extraction have been studied for stream waters and soil solution samples. As found in previous studies, the choice of filter has no significant effect on qualitative and quantitative bulk-scale descriptors along the soil–river continuum.

Since looking at the molecular composition of DOM may be very fruitful for biogeochemical and ecological studies, and since DOM compounds are more vulnerable to potential contamination, it was necessary to ensure that the molecular composition of DOM was not affected by the filter type and filter porosity used for the filtration step.

Molecular characterization by THM-GC–MS highlights no significant filtration effect on the distribution of the 43 target compounds that cover the investigation of polysaccharides, fatty acids, lignins and tannins in DOM. Results of pseudo-quantification of the three classes of compounds (LIG, FA and CAR) highlight higher concentrations for samples filtered at 0.2 μm compared to 0.7 μm , which were attributed to an analytical bias due to the sorption of organic molecules on mineral surfaces, resulting in a shield effect during the thermochemolysis step. Then it seems more efficient to perform one single filtration step, using 0.7 μm glass fiber filters allowing the reduction of analytical cost and environmental impact.

From a conceptual point of view, this apparent similarity between < 0.7 and $< 0.2 \mu\text{m}$ DOM, interpreted in the framework of the POM–DOM continuum would signify a lack of

DOM between those two thresholds. Considering the colloidal forms of DOM at this size range, built up by weak forces, this apparent lack of DOM has been interpreted as the result of the breakup of colloids caused by shear forces applied during filtration.

Supplementary information

Tableau 3-S1 : Samples characteristics and identification of the samples used for molecular analysis

number of sample	date	nature of sample	location	depth (cm)	molecular analysis
1	10/29/2013	stream waters	Kerolland		X
2			Mercy		X
3	11/05/2013	soil solutions	Gueriniec	downslope	15
4			Gueriniec	upslope	15
5			Gueriniec	upslope	50
6			Kerolland	downslope	55
7			Kerolland	downslope	40
8			Kerolland	midslope	70
9			Kerolland	upslope	20
10			Kerolland	upslope	40
11			Kerolland	upslope	55
12			Kerolland	upslope	100
13			Mercy		10
14			Mercy		30
15			Mercy		55
16		stream waters	Gueriniec		
17			Kerolland		
18			Mercy		
19			Outlet		
20	11/12/2013	stream waters	Gueriniec		
21			Kerolland		
22			Mercy		
23			Outlet		
24	11/26/2013	stream waters	Gueriniec		
25			Kerolland		
26			Mercy		
27			Outlet		
28	12/10/2013	stream waters	Gueriniec		
29			Kerolland		
30			Mercy		
31			Outlet		
32	12/19/2013	stream waters	Gueriniec		
33			Kerolland		
34			Mercy		
35			Outlet		
36			Outlet		
37	12/27/2013	soil solutions	Kerolland	downslope	10
38			Kerolland	upslope	20
39			Kerolland	upslope	55
40			Kerolland	upslope	85
41		stream waters	Gueriniec		
42			Kerolland		
43			Mercy		
44			Outlet		

Tableau 3-S2 : List of the analyzed compounds and their appropriate m/z ratio and mass spectra factor (MSF)

Compound name	m/z	MSF
Lignin and tanins		
3,4-dimethoxyacetophenone (acetovanillone)	165	2,8
3,4-dimethoxybenzaldehyde (vanillin)	166	4,2
3,4-dimethoxybenzoic acid, methyl ester (vanillic acid)	196	5,6
3,4,5-trimethoxyacetophenone (acetosyringone)	195	4,8
3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde)	196	6,7
3,4,5-trimethoxybenzoic acid, methyl ester (syringic acid)	226	5,3
3-(4-methoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (p-coumaric acid)	192	6,7
3-(3,4-dimethoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (ferulic acid)	222	3,7
4-methyl-1,2-dimethoxybenzène	152	5,7
2-methyl-1,4-dimethoxybenzène	152	4,7
1,2,4-trimethoxybenzène	168	4,3
1,3,5-trimethoxybenzène	168	3
4-methoxybenzoic acid methylester	135	2,8
1,2,3-trimethoxybenzène-5-méthyl	167	7
1,2,3,4-tetramethylbenzène	198	3,5
1,2,3,5-tetramethylbenzène	198	13,5
Carbohydrates		
Xylose	129	4
Glucose	129	4
Galactose	129	4
Fatty acids		
C13:0	74	4,1
C14:0	74	3,1
iso C15:0	74	3,3
anteiso C15:0	74	3,3
C15:0	74	3,3
brC16:0	74	4,9
C16:1	74	14,5
C16:0	74	4,9
iso C17:0	74	3,9
anteiso C17:0	74	3,9
C17:0	74	3,9
C18:1	74	14,6
C18:0	74	4,5
C19:0	74	4,3
C20:0	74	4,9
C21:0	74	7,5
C22:0	74	4,9
C23:0	74	8,4
C24:0	74	4,4
C25:0	74	7,7
C26:0	74	4,5

Chapitre 4

Mise en évidence du rôle de l'érosion de surface et de subsurface dans l'évolution de la composition moléculaire de la MOD à la rivière pendant les crues

-

New molecular evidence for surface and sub-surface soil erosion controls on the composition of stream DOM during storm events

Ce chapitre correspond à un article en cours de publication dans la revue *Biogeosciences* :

New molecular evidence for surface and sub-surface soil erosion on the composition of stream DOM during storm events.

Denis, M., Jeanneau, L., Petitjean, P, Murzeau, A., Liotaud, M., Yonnet, L., Gruau, G.

Résumé

Dans les petits bassins versants de tête, plus de 60% des MOD sont exportées au cours des épisodes de crues du fait de l'augmentation de débit et de concentration en MOD dans les cours d'eau pendant ces périodes hydrologiques. L'augmentation de la concentration en MOD a été attribuée à l'augmentation de la circulation de l'eau dans les horizons de surface des sols, riches en matières organiques. L'étude récente de la composition moléculaire de la MOD pendant ces périodes ont permis de proposer des hypothèses alternatives : (i) la production dans le cour d'eau de MOD par équilibre chimique entre les particules de sols érodées et la phase dissoute, (ii) la modification de composition de la MOD des sols pendant les crues. Pour vérifier ces hypothèses, les solutions de sols en circulation dans les macropores, le ruissellement de surface et la rivière à l'exutoire du bassin versant ont fait l'objet d'un échantillonnage haute fréquence pendant trois épisodes de crues sur le bassin versant de Kervidy-Naizin. La composition moléculaire de la MOD a été analysée par thermochimiolyse en présence de TMAH couplée à un système de chromatographie gazeuse et de spectrométrie de masse (THM-GC-MS). Ces analyses ont permis de mettre en évidence une modification de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol, contrôlée par la dynamique de la nappe et les conditions hydrologiques pré-crue. Ces résultats obtenus sont en accord avec les mécanismes de mobilisation colloïdal et particulaire qui ont lien dans la macroporosité des sols. Les comportements différents des marqueurs des lignines et tannins, des carbohydrates et des acides gras ont permis de poser l'hypothèse d'une ségrégation de ces différentes molécules sur la base de leur hydrophobicité. La composition similaire observée pendant les crues entre la solution de sol et le ruissellement de surface laisse supposer d'un mécanisme de production similaire. De plus, la composition de la MOD dans les solutions de ruissellement et dans la solution de sol correspond à la composition moléculaire observée à la rivière pendant les crues. L'ensemble de ces observations tendent donc à montrer que la composition de la MOD à la rivière pendant les crues serait due à une érosion de surface et de sub-surface des sols plutôt qu'à une production au sein de la rivière.

Abstract

Storm events are responsible for more than 60% of the export of dissolved organic matter (DOM) from headwater catchments due to an increase in both the discharge and concentration. The latter was attributed to changing water pathways inducing the mobilization of DOM from the surface soil horizons. Recent molecular investigations have challenged this view and hypothesized (i) a contribution of an in-stream partition of organic matter (OM) between eroded particles and the dissolved fraction and (ii) the modification of the composition of soil DOM during storm events. To investigate these assumptions, soil solutions in the macropores, surface runoff and stream outlet were sampled at high frequency during three storm events in the Kervidy-Naizin catchment, part of the French critical zone observatory AgrHys. The molecular composition of the DOM was analysed by thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) coupled to a gas chromatograph and a quadrupole mass spectrometer. These analyses highlighted a modification of the DOM composition in soil solution controlled by the water-table dynamic and pre-event hydrological conditions. These findings fits with the mechanism of colloidal and particulate destabilization in the soil macroporosity. The different behaviour observed for lignins, carbohydrates and fatty acids highlights a potential chemical segregation based on their hydrophobicity. The composition of surface runoff DOM is similar to the DOM composition in soil solution and could be generated by the same mechanism. The DOM composition in both soil solution and surface runoff corresponds to the stream DOM composition observed during storm events. On the basis of these results, modifications of the stream DOM composition during storm events seem to be due to surface and sub-surface soil erosion rather than in-stream production.

1. Introduction

The transfer of organic carbon from soils to rivers and finally to oceans represents an important part of the global carbon cycle. This organic carbon is transferred as particulate organic matter (POM) and dissolved organic matter (DOM) (Ludwig et al., 1996; Schlesinger et Melack, 1981) which is the most active form of soil organic matter (SOM). The DOM dynamic is highly studied by the scientific community; however, uncertainties remain as to the parameters and processes that control their production, interactions and transfer from soils to aquatic systems (McDowell, 2003).

When considering DOM fluxes at the catchment scale, headwater catchments are the major producer of DOM per surface unit (Ågren et al., 2007). Within catchments, wetlands and riparian zones mostly contribute to DOM export due to high soil organic carbon contents in the first horizons, hydrological connections and extended flooded period which allow water to circulate from soils to rivers (Aitkenhead et al., 1999; Dosskey et Bertsch, 1994; Eckhardt et Moore, 1990). The intensity of DOM export varies over seasons and hydrological conditions depending on the sources and water flow paths. When considering annual river DOM fluxes, more than 50% is exported during storm events (Buffam et al., 2001; Morel et al., 2009; Raymond et Saiers, 2010). This largest export is attributed to the rise of the water table in organic-rich soil horizons which become hydrologically connected to the river (Boyer et al., 1996), and to the fact that river discharge is mostly sustained by soil water fluxes during storm events (Hagedorn et al., 2000; Lambert et al., 2011). Storm events are also responsible for the modification of the dissolved organic carbon (DOC) concentration and fluxes in soils. A dilution effect was evidenced by Easthouse, (1992) during high precipitation events in organic horizons. Low contact time between the water and soil matrix also creates non-equilibrium situations which lead to a decrease in the DOC concentration in soil solutions (Mcdowell et Wood, 1984; Michalzik et Matzner, 1999). For all of these reasons, storm events represent special events that must be taken into account in order to provide new insights regarding production mechanisms and the transfer of DOM from a terrestrial to an aquatic environment.

During the base flow period, DOM is assumed to be produced in the soil microporosity and transferred to the soil macroporosity by diffusion processes, and then to the stream by soil water flow (Worrall et al., 2008). With the establishment of storm flow, the transfer of DOM from the soil solution is assumed to be made conservatively via a piston like

effect, as used for the end-member mixing analysis and isotopic studies. However recent studies have demonstrated that this assumption about the conservative transport of DOM could be impacted by production mechanisms activated during storm flow which could possibly induce a modification of the DOM composition (Dalzell et al., 2005; Hernes et al., 2008). Molecular analyses of lignin biomarkers in stream water DOM have shown that the establishment of storm flow was responsible for an increase in the lignin concentrations and changes in the lignin composition where the lignin in streams during storm flows is less biodegraded compared to the base flow conditions. These modifications, correlated with the turbidity, were attributed to the activation of new production processes via a chemical equilibrium between the water and POM brought to the river by soils and river bank erosions and which is called an “in-stream process”. However, high frequency sampling of stream water during storm flow has shown that the modification of the molecular composition of lignin was persistent even after the decrease of the discharge and turbidity (Jeanneau et al., 2015). To explain these results, other production processes have to be taken into account. One hypothesis that has been proposed is a modification of the DOM composition in soil solutions during storm flow due to sub-surface erosion which corresponds to SOM erosion in soil macropores triggered by the increase in the water flow velocity (Jeanneau et al., 2015).

Within this context of DOM modification during storm flow, DOM characterization is mostly done using spectroscopic techniques which allow a global characterization. The application of thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) using tetramethylammonium hydroxide (TMAH) coupled to a gas chromatograph and mass spectrometer (THM-GC-MS) appears to be a suitable technique to provide a more precise qualitative characterization of the DOM composition variations. This technique has the advantage of being able to simultaneously analyse biomarkers from lignins (LIG), carbohydrates (CAR) and fatty acids (FA) (Grasset et al., 2009). While LIG come from a plant origin only, CAR and FA could be used to differentiate between a plant and microbial origin. Moreover, the investigation into their distribution may provide new evidence of compositional modification during the establishment of storm flow.

The main questions investigated are (i) is the DOM composition in soil solution modified during storm flow? (ii) If these changes are observed, are they consistent with modifications in the DOM composition in stream water during storm flow? (iii) Which mechanisms could explain these compositional modifications? To this end, soil solutions and stream water were sampled simultaneously at high frequency during the storm flow period

and analysed for their molecular composition. This simultaneous sampling of soil and stream water at high frequency is a novelty in DOM studies and to our knowledge, this has never been studied by DOM molecular analysis to investigate the transfer of DOM from soils to rivers during rain events. The in-stream process was also simulated in order to measure its potential impact on the DOM molecular composition during storm events.

2. Material and methods

2.1 Study site

The study was conducted in the Kervidy-Naizin catchment (Figure 4-1), a 4.9 km² headwater catchment located in central Brittany, France. It belongs to the French Environmental Research Observatory (ORE) AgrHyS which is the site of a long-term monitoring research program aimed at understanding the impact of agricultural intensification and climate change on hydrologic processes and water quality. The climate is oceanic temperate with an annual mean precipitation of 837 mm and an annual mean temperature of 11.3°C between 1994 and 2016. Previous studies conducted on this site provide evidence for the structuration of the hydrological year into three different periods: period A where the water table reaches the surface in down-slope wetlands but stays below the surface in the slope; period B where rainfall intensification is responsible for the rise of water table in the slope which creates a hydrological connection between the slope soils, riparian soils and stream (Figure 4-2); and period C which is characterized by the return of the water table to deep soil horizons resulting in the progressive drying of wetland soils (Aubert et al., 2013; Humbert et al., 2015; Lambert et al., 2013; Molenat et al., 2008). With the water table rise during period B, the water flow path geometry in riparian wetlands changes from a vertical to horizontal circulation.

2.2 Water and soil sampling

Between 2014 and 2016, three storm events were studied, all situated in period B: two during the 2014–2015 hydrological year on January 14th and February 12th and one during the 2015–2016 hydrological year on January 7th (Figure 4-2). The discharge was recorded every minute by an automatic gauge station located at the outlet of the catchment. The hourly

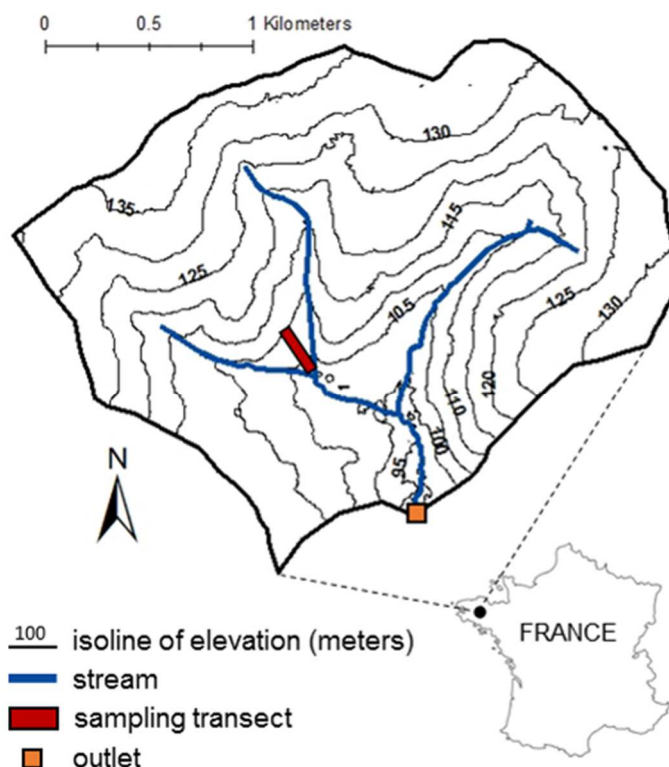


Figure 4-1 : Map of the Kervidy-Naizin catchment (Britany, France). The soil solutions were sampled in the wetland area of the transect. The stream waters were sampled at the outlet of the catchment.

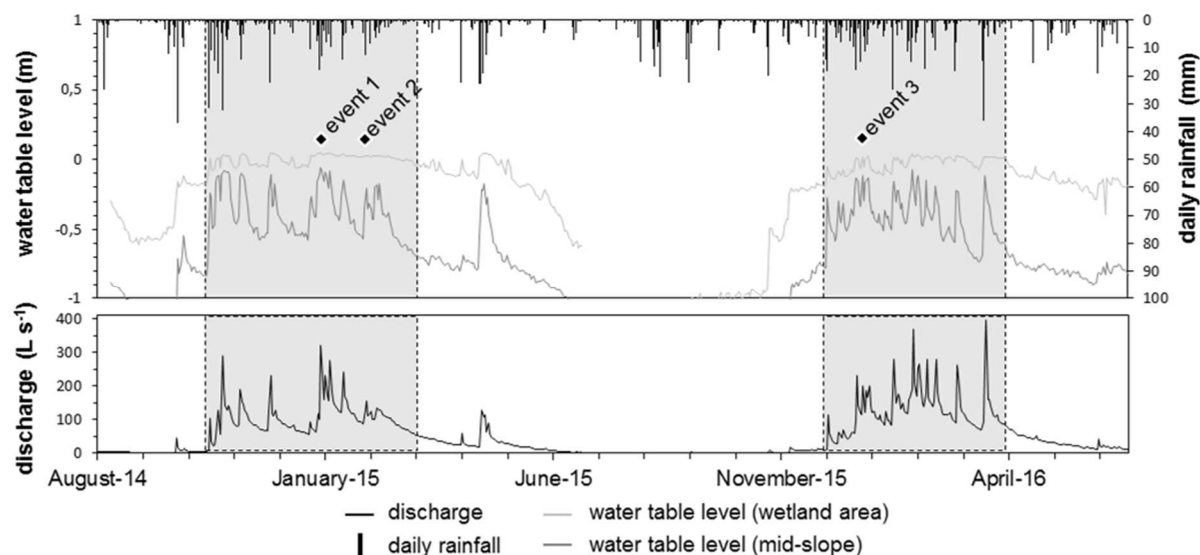


Figure 4-2 : Daily rainfall, water table level and discharge during hydrological years 2014/2015 and 2015/2016. The storm events were sampled when water remains in surface horizons in wetland area (hydrological period B – grey areas). This period is characterized by hydrological connectivity between mid-slope and wetland soils during rain events.

rainfall was monitored at the weather station. The water table level along the slope was monitored every 15 min by piezometers (Figure 4-1). The difference in the altitude of the water table between two piezometers, denoted ΔH , allowed to follow the rise of the water table in the slope during storm events. Stream water samples were collected by an automatic sampler located at the outlet of the catchment. An increase of $> 1 \text{ L.s}^{-1}$ during 10 min determined the beginning of the sampling. A one litre sample was collected in polypropylene bottles and stored at 4°C. The sampling frequency varied from 30 min to 1 h depending on the storm event. Soil solutions were collected manually in 1L glass bottles. A pumping system applied to zero-tension lysimeters allowed to collect the soil solution in the soil macroporosity. This device was located in a wetland area, approximately 20 m from the stream and at a depth of 10 cm in the organo-mineral horizon. Each sample corresponds to the combination of three sub-samples collected in three different zero-tension lysimeters implemented at the same depth. The sampling frequency varied between 1 and 3 hours at the beginning of the event. Then, either one or two samples were collected to cover the two or three days following the storm event. Surface runoff samples were collected manually two or three times per event in glass bottles, in the channels that appeared in the wetland area at the soil surface during storm events. All of these samples collected during storm events were analysed for their DOC and anion concentrations and molecular composition. During the base flow period, daily monitoring was performed by manually sampling 60 mL of stream water at the outlet in polypropylene bottles for the DOC concentration and anion measurements. Soil solutions and outlet stream waters were each sampled over a 15 day periods for the DOC and anion concentrations and molecular composition. Base flow and storm flow samples were transported to the laboratory to be treated within 24 h after sampling.

Soil was sampled in the riparian area of the sampling transect. Three samples were collected at 0-10 cm, 10-20 cm and 20-30 cm for molecular characterization.

2.3 In-stream process simulation

The in-stream process was identified as a potential DOM source during storm flow conditions. It was simulated by shaking 1 g of soil with 1 L ultrapure water at 200 revolutions per minute for 1 h at room temperature, and performed in triplicate to assess the experimental reproducibility. The soil sample was collected in the riparian wetland of the sampling transect, in the organic horizon. It was previously air dried and 2 mm sieved to remove the organic

debris. The use of a 1:1000 soil:water ratio was based on the turbidity recorded in stream at the outlet between 2007 and 2010, which rarely exceeded 1 g L^{-1} in storm flows (Dupas et al., 2015b).

2.4 Sample preparation and chemical analyses

Daily stream water samples were filtrated at $0.2 \mu\text{m}$. The in-stream process simulation, soil solutions and stream water samples were filtrated successively at $0.7 \mu\text{m}$ (glass fiber filters, Sartorius, Germany) and $0.2 \mu\text{m}$ (cellulose acetate filters, Sartorius, Germany). A pre-filtration at $0.7 \mu\text{m}$ was necessary due to a high suspended matter concentration. As $0.2 \mu\text{m}$ filters are made of cellulose acetate, they were rinsed with 0.5 L ultrapure water to prevent any release of organic carbon. This volume was previously determined to reach analytical blank values for the DOC measurements. The concentrations were determined using a Shimadzu TOC-5050A total carbon analyser. The precision of the measurements was estimated to be $< \pm 5 \%$ based on the repeated analyses on the sample and standard solutions. The chloride, nitrate and sulphate concentrations were measured by ion chromatography. Anion concentration data were not available for event 3. The water and soil samples were freeze-dried for molecular analysis.

2.5 Molecular analysis

Approximately 2 mg of lyophilisate and 10 mg of tetramethylammonium hydroxide (TMAH) were introduced in a reactor and placed in a vertical microfurnace pyrolyser PZ-2020D (Frontier Laboratories). To allow the TMAH reaction to occur, pyrolysis was carried out at 400°C during 1 min. The gases produced were injected directly into a GC-2010 (Shimadzu, Japan) equipped with a SLB 5MS capillarity column (60 m, 0.25 mm i.d. , $0.25 \mu\text{m}$ film thickness) with a split mode (between 10 and 15). The temperature of the transfer line was 321°C , and the temperature of the injection port was 310°C . The oven temperature was initially 50°C (held during 2 min) and rose to 150°C at 15°C/min , and then rose from 150°C to 310°C (held for 14 min) at 3°C/min . Helium was used as a carrier gas with a flow rate of 1.0 mL/min . After separation by GC, the compounds were detected by a QP2010+MS mass spectrometer (Shimadzu, Japan) operating in the full-scan mode for m/z values comprised between 50 and 600. The transfer line was at 280°C and the molecules were

ionized by electron impact using an energy of 70 eV, and an ionization source temperature set at 200°C. The molecules were identified by comparing their full-scan mass spectra with the library provided by the National Institute of Sciences and Technology (NIST) and research articles (Nierop et Verstraten, 2004; Nierop et al., 2005).

Using the appropriate m/z for each compound, the peak areas were integrated and corrected by a mass spectra factor (SupplementaryTable 4-S1) which corresponds to the reciprocal of the proportion of the fragment used for the integration and the entire fragmentogram in the NIST library. The identified compounds were classified into three categories: lignins and tannins (LIG), carbohydrates (CAR) and fatty acids (FA). The proportion of each compound class was calculated by dividing the sum of the areas of the compounds in this class by the sum of the peak areas of all analysed compounds and expressed as a percentage. LIG markers are classified in three main groups: vanillic units (V), syringic units (S) and coumaric units (C). The ratio of coumaric to vanillic units (C/V) was investigated to trace the degradation state of lignin (Kögel, 1986). An increase in this ratio was previously observed during storm events and was attributed to the mobilization of less biodegraded LIG (Dalzell et al., 2005; Hernes et al., 2008; Jeanneau et al., 2015). The TMAH reaction of CAR was used to analyse the free and terminal monosaccharides and to differentiate the hexoses (C6), deoxyhexoses (deoxyC6) and pentoses (C5) (Fabbri et Helleur, 1999; Grasset et al., 2009). The equilibrium between plant-derived and microbial origins was based on the deoxyC6/C5 ratio (Rumpel et Dignac, 2006). It is also possible to differentiate between plant and microbial biomarkers for FA. FA with a high molecular weight ($> C_{19:0}$) are from a plant origin while FA with a low molecular weight ($< C_{19:0}$) come from a microbial origin except for $C_{16:0}$ and $C_{18:0}$ which can be derived from both (Frostegard et al., 1993; Zelles, 1999). The proportion of microbial markers among the analysed compounds (f_{mic}) was calculated according to Jeanneau et al., (2015).

2.6 Statistical treatments

Principal components analyses (PCA) were performed using XLSTAT (Addinsoft 2013). Three PCAs were carried out on the molecular compositions. The first one was carried out on the LIG markers, using the relative percentage of each molecule. If two molecular markers were correlated or anti-correlated (> 0.9 or < -0.9 in Pearson's test), the least intense marker was removed. The molecules retained as variables are identified in Supplementary

Table 4-S1. The second PCA was carried out on the CAR markers, using the relative percentage of each molecule. Due to the occurrence of correlations between the molecules, they were broken down into three classes: C5, deoxyC6 and C6. The third PCA was carried out on the FA markers, using the relative percentage of each molecule. If two molecular markers were correlated or anti-correlated (> 0.9 or < -0.9 in Pearson's test), the least intense marker was removed. The molecules retained as variables are identified in Supplementary Table 4-S1. For these three PCAs, the coordinates of the samples on axis F1, which represents the maximum of variance, were used as a proxy to investigate potential differences in the distribution of the target compounds among these three classes between the soil, surface runoff, stream water and soil solutions during the base flow and storm flow periods. Significant differences were identified using Dunn's multiple comparison test.

Two additional PCAs were carried out to investigate the contribution of the sources (soil solution, surface runoff and groundwater) to stream water during storm flow conditions. These PCAs were performed using chloride, nitrate and sulphate concentrations that could be considered as tracers due to their contrasting between source concentrations (Christophersen et al., 1990). Since these data were not available for event 3, this statistical treatment was carried out for events 1 and 2. The PCAs were calculated with groundwater, soil solution and surface runoff samples as observations and stream water samples as additional observations. The groundwater concentrations were based on annual samples taken during period B from 2012 to 2014. Since the stream water samples plotted inside the triangle formed by the three end-members, their contributions were calculated by solving a system of equations with three unknowns using their coordinates on axes F1 and F2. The sum of the variance explained by axes F1 and F2 were 82.8 % and 87.3 % for event 1 and 2, respectively. Given that the soil solution end-member was not fixed due to the decrease in the nitrate and chloride concentrations during storm events (Supplementary Figure 4-S1), the coordinates of this endmember for the resolution of the system of equation was adapted as a function of the sampling time.

3. Results

3.1 Hydrology

Event 1 (Figure 4-3a) was characterized by intense precipitation with 43.5 mm of rainfall between the 13th and 16th of January 2015. First, 7 mm of rainfall fell on January 13th which resulted in an increase in the discharge, from 70 to 95 L s⁻¹, and ΔH , from 1.22 to 1.47 m. The discharge returned to the pre-event level but regular rainfall allowed to maintain a high ΔH value. The second precipitation event was larger with steady rainfall during 15 hours for a total amount of 31 mm, and a maximal intensity of 5 mm h⁻¹. This rainfall was responsible for an increase in the discharge, from 89 to 660 L s⁻¹, and ΔH , from 1.46 to 1.56 m. A rapid decrease in the discharge occurred at the end of the rainfall. However, ΔH remained higher than 1.45 m two days after the event.

Event 2 (Figure 4-3b) was characterized by a smaller total rainfall amount with 18 mm between the 12th and 15th of February 2015, with a maximal intensity of 3 mm h⁻¹. Precipitation occurred discontinuously leading to three successive increases in the discharge and ΔH . Over the whole event, the discharge increased from 85 to 175 L s⁻¹ and ΔH increased from 1.02 to 1.41 m. The discharge decreased rapidly to 100 L s⁻¹, 48 hours after the end of the rainfall. The decrease in ΔH occurred more gradually to reach 1.17 m, 48 hours after the end of the rainfall.

Event 3 (Figure 4-3c) was characterized by the establishment of two successive storm flow episodes. The first occurred on the 6th and 7th of January 2016 with 15 mm. Continuous rainfall occurred with a maximal intensity of 3 mm h⁻¹ leading to a rapid increase in both the discharge (from 101 to 277 L s⁻¹) and ΔH (from 1.29 to 1.53 m). The end of the rainfall induced a rapid decrease in both the discharge and ΔH . The second rainfall episode happened between the 8th and 11th of January 2016 with a total rainfall amount of 30 mm and a maximal rainfall intensity of 3.5 mm/h. These discontinuous rainfalls were responsible for two successive discharge increases which ranged from 112 to 281 L s⁻¹. Within 48 h after the end of the rainfall, the levels returned to the pre-event discharge and ΔH levels.

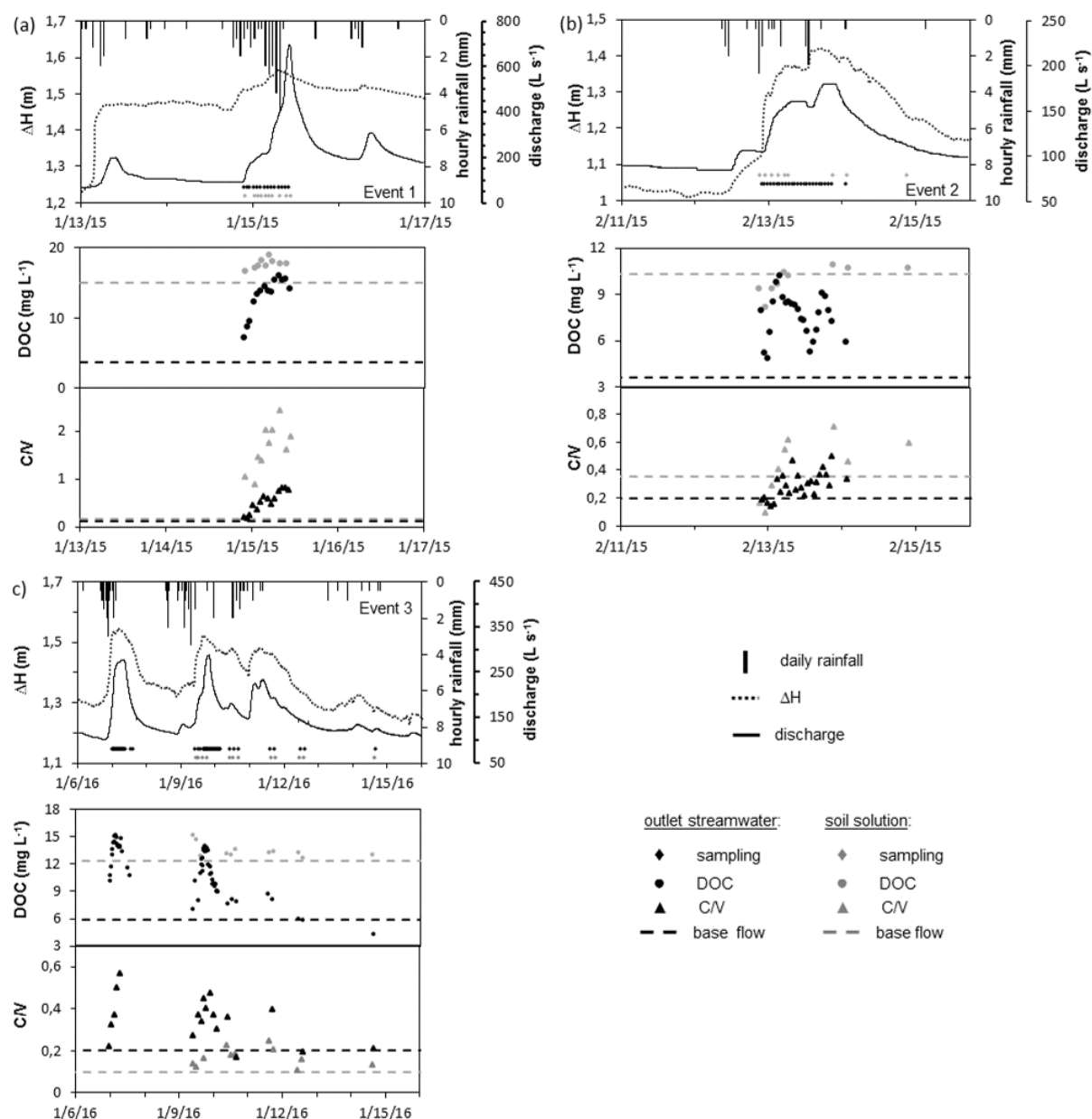


Figure 4-3 : Hourly rainfall, discharge and ΔH for events 1,2 and 3. Evolution of DOC concentration and C/V in stream water and soil solution.

3.2 Molecular composition of the SOM

In the SOM, LIG, CAR and FA represented 33 ± 14 , 7 ± 1 and $60 \pm 13\%$ (mean $\pm$ standard deviation; $n = 3$) of the target compounds, respectively. For CAR, $67 \pm 3\%$ of the compounds were hexoses which were mainly derived from cellulose and $13 \pm 3\%$ of the FA

were derived from cutines and suberines. Among all of the target compounds, $17 \pm 6\%$ were from a microbial origin (Figure 4-4).

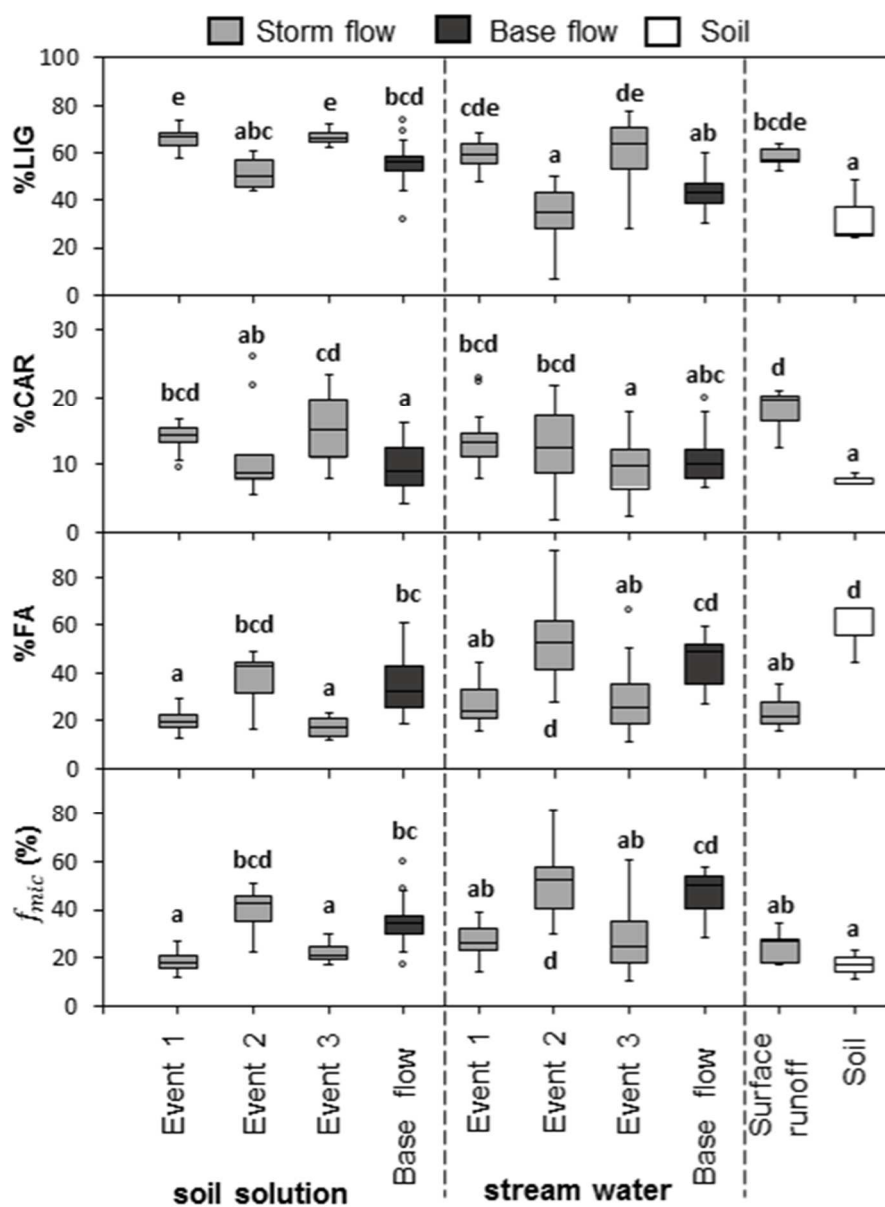


Figure 4-4 : Box-plot of %LIG, %CAR, %FA and f_{mic} in soil, surface runoff, stream water and soil solution during storm-flow and base-flow conditions. Letters not shared across box-plot indicate significant mean differences using Dunn's test of multiple comparison.

3.3 Molecular composition of the soil solution DOM

Over the two hydrological years, the DOC concentration of the soil solution in period B varied from 10.3 to 15.0 mg L⁻¹ during base flow conditions (Figure 4-3). During the three investigated storm events, rainfall induced modifications of the DOC concentrations in the soil solutions. During event 1, the DOC increased by 2.4 mg L⁻¹ and then remained stable. During event 2, the DOC concentration increased by 2.7 mg L⁻¹. The beginning of event 3 was characterized by a 2 mg L⁻¹ decrease, then the DOC concentration remained 0.6 mg L⁻¹ above the base flow concentrations until the end of the sampling period which was characterized by a decrease in the discharge. During event 1, the nitrate concentrations decreased from 7.0 to 0.6 mg L⁻¹ whereas the sulphate and chloride levels stayed stable. For event 2, the sulphates stayed stable but the nitrates and chlorides decreased from 23.8 to 8.1 mg L⁻¹ and 56.7 to 45.5 mg L⁻¹, respectively (Supplementary Figure 4-S1).

During the base flow period, LIG, CAR and FA represented 55 ± 11 , 10 ± 4 and $35 \pm 13\%$ (mean $\pm$ standard deviation; $n = 13$) of the analysed target compounds, respectively. Among all of the samples for the base flow and storm flow soil solutions, FA derived from cutines and suberines were never identified. Compared to the base flow period, events 1 and 3 were characterized by higher proportions of LIG and CAR, and lower proportions of FA. The proportion of microbial markers (f_{mic}) was $36 \pm 12\%$ during the base flow period and decreased to $19 \pm 5\%$ and $24 \pm 8\%$ during events 1 and 3, respectively. For event 2, the LIG, CAR, FA, and f_{mic} values were not significantly different from the base flow conditions (Figure 4-4). During base flow, the C/V values in soil solution ranged from 0.1 to 0.3. Storm flow conditions were responsible for an increase in the C/V ratio with a variable intensity depending on the event. During event 1, the C/V ratio ranged from 0.9 to 2.4 and was six times higher than in the base flow conditions from the first sampling points. During event 2, the C/V ratio ranged from 0.1 to 0.7. It slowly increased with the ΔH values and remained high even after ΔH started to decrease. During event 3, the C/V ratio ranged from 0.1 to 0.3. It slowly increased with the ΔH values but rapidly returned to the base flow level during the decrease in ΔH (Figure 4-3).

Based on the PCA analysis, the distribution of the LIG markers is significantly different from the base flow period for event 1. For the FA distribution, events 1 and 3 are significantly different from the base flow distribution. However, the CAR distribution did not vary between the base flow and storm flow distributions. For event 2, the distribution of LIG,

CAR and FA are not significantly different from the base flow period when the whole event is considered (Figure 4-5). However, when considering the temporal evolution, the three first samples were not significantly different from the LIG distribution during the base flow conditions, while the following samples were significantly different (Supplementary Figure 4-S2).

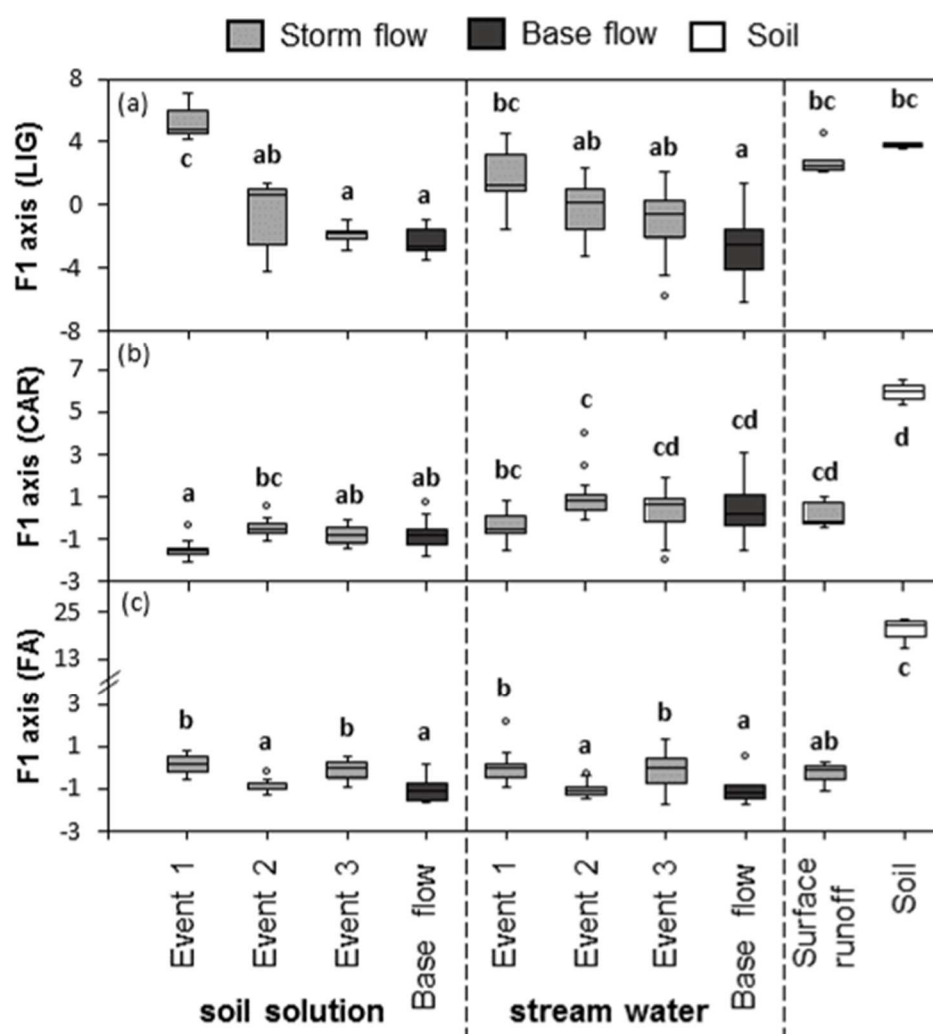


Figure 4-5 : Coordinate on F1 axis from (a) LIG, (b) CAR and (c) FA molecular distribution PCA analysis for soil, surface runoff, stream water and soil solution during storm-flow and base-flow. Letters not shared across box-plots indicate significant mean differences using Dunn's test of multiple comparison.

3.4 Molecular composition of the surface runoff

The DOC concentrations in surface runoff ranged from 8.9 to 27.1 mg L⁻¹. LIG, CAR and FA represented 58 ± 5 , 18 ± 4 and $24 \pm 8\%$ (mean $\pm$ standard deviation; $n = 5$) of the target compounds respectively and $25 \pm 7\%$ of these compounds were of microbial origin. (Figure 4-4). The C/V ratio ranged from 0.5 to 1.8. The LIG distribution corresponded to the distribution observed for soil solutions, stream water and soil during event 1. The CAR distribution corresponded to the distribution observed for stream water during the base flow and storm flow periods. The FA distribution was intermediate between the distributions observed during the storm flow and base flow periods in soil solutions and stream water (Figure 4-5).

3.5 Molecular composition of the stream water DOM

Over the two hydrological years, the DOC concentration in stream water varied from 3.5 to 5.9 mg L⁻¹ during the base flow period in period B (Figure 4-3). With the establishment of storm flow, the magnitude of the increase in the DOC concentration was event dependent. Events 1 and 3 reached maximum concentrations of 16.1 mg L⁻¹ and 15.2 mg L⁻¹, respectively. A smaller increase was measured for event 2, which reached a maximum DOC concentration of 10.3 mg L⁻¹. The increase in the DOC concentration happened quickly after the increase in discharge, and decreased rapidly during the falling limb of the hydrograph for events 2 and 3, while the falling limb of the hydrograph was not sampled for event 1.

During the base flow period, LIG, CAR and FA represented 44 ± 9 , 11 ± 5 and $45 \pm 12\%$ (mean $\pm$ standard deviation, $n = 8$) of the target compounds, respectively. The microbial biomarkers (f_{mic}) represented $46 \pm 12\%$ of the target compounds. Compared to the base flow period, events 1 and 3 were characterized by higher proportions of LIG and lower proportions of FA (Figure 4-4). The target molecules are primarily from a plant origin as indicated by the low f_{mic} value. The relative proportions of CAR were not significantly different from those during the base flow period. For event 2, the proportions of LIG, FA, CAR and the f_{mic} value were not significantly different from the base flow period (Figure 4-4). During base flow conditions, the C/V values ranged from 0.13 to 0.20. The magnitude of the increase in the C/V ratio during storm flow conditions was event dependent with maximal values of 0.82 for event 1 and 0.50 for events 2 and 3 (Figure 4-3).

Based on the PCA analysis, the distribution of the LIG markers was significantly different from that in base flow conditions for event 1 with a shift toward soil distribution during storm flow (Figure 4-5). For the FA distribution, events 1 and 3 were significantly different from the base flow conditions. The distribution of CAR did not vary between the base flow and storm flow conditions (Figure 4-5).

3.6 Molecular composition of the in-stream process DOM

Samples obtained after 1 h of shaking were characterized by low DOC concentrations ($1.1 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$ mean $\pm$ standard deviation; $n = 3$). Among the target molecules, $19 \pm 2\%$ were LIG markers, $22 \pm 3\%$ were CAR markers and $59 \pm 3\%$ were FA markers. The target molecules were mainly from a microbial origin with a f_{mic} value of $59 \pm 2\%$. The lignins produced were characterized by a C/V ratio (0.19 ± 0.01) similar to the soil solutions and stream water sampled during the base flow period.

4. Discussion

4.1 Is the DOM composition modified in soil solutions during storm events?

The high frequency sampling of soil solutions revealed that the molecular composition of the soil solution was modified during storm events. The establishment of storm event conditions induces a modification in the LIG, CAR and FA proportions as well as the molecular distribution in these classes (Figures 4-4 and 4-5). As indicated by the lower f_{mic} values measured during soil solution storm events compared to the base flow period, soil solution DOM predominantly came from a plant origin (Figure 4-4). The increase in the C/V value during storm events revealed that the DOM was composed of lignins that were less biodegraded compared to the base flow DOM (Hedges et Weliky, 1989; Opsahl et Benner, 1995) (Figure 4-3). These modifications were recorded during the storm event and during the falling limb of the hydrograph for events 2 and 3. Therefore, this implies that the mechanism responsible for the mobilization of this DOM is persistent after the return to the pre-event discharge levels. Moreover, the intensity of the variations was event dependent. This could be due to the intensity of the mechanism responsible for mobilizing this MOD during flood events.

4.2 What are the hydrological drivers of these modifications?

Events 1 and 2 were characterized by different hydrological conditions. The total rainfall amount during event 1 was 43.5 mm with maximal ΔH values that reached 1.57 m. Event 2 was characterized by 18 mm of rainfall and a lower increase of ΔH which reached 1.41 m (Figure 4-3). Moreover, the molecular composition of the soil solution DOM sampled during these two storm events was modified compared to the base flow conditions but with different intensities. The intensity of the molecular composition modification was higher for event 1 compared to event 2 (Figure. 4-5). As the intensity of storm flow conditions and more particularly the flow rate in soils is known to increase colloidal and particulate mobilization (Kaplan et al., 1993; Majdalani et al., 2008; Zhang et al., 2016), which can be bound with organic matter (Laegdsmand et al., 1999), we hypothesize that hydrological conditions were responsible for this variability between storm events. To test this hypothesis, the distribution of LIG, which showed more significant molecular modifications, was investigated as a function of ΔH for soil solutions sampled during base flow and storm flow conditions (Figure 4-6). These results clearly evidenced the relationship between the rise of the water table in the slope and the intensity of the molecular composition changes. The more intense modifications of the LIG composition were recorded for the highest ΔH values. Therefore, the rise of the water table in the slope seems to control the mechanisms responsible for the mobilization of DOM characterized by different molecular compositions. However, the LIG composition in soil solutions during event 3 were not significantly different from those in base flow conditions despite high ΔH values (Figure 4-5 and 4-6). These observations highlight that other parameters may be involved in soil solution DOM production during storm events. Events 1 and 3 were characterized by a comparable rainfall amount with 43.5 and 30 mm, respectively, and maximal ΔH values of 1.57 and 1.52 mm, respectively (Figure 4-3). However, a first storm event occurred two days before event 3. This pre-event was responsible for the modification of the stream DOM composition as evidenced by the increase in the C/V value in stream water (Figure 4-3). Even if the soil solution has not been sampled, we can hypothesize that this pre-event may have been responsible for the establishment of suitable conditions for DOM mobilization in soil solutions. To explain the lack of variations in the LIG composition found in the soil solution observed when the ΔH values are high, the hypothesis could be that a limited amount of colloids bound with the DOM were available for mobilization (Jarvis et al., 1999). The occurrence of the first pre-event two days before event 3 could have nearly completely depleted the supply of colloids available for mobilization.

Despite the establishment of suitable conditions during event 3, a significant molecular composition could not be observed.

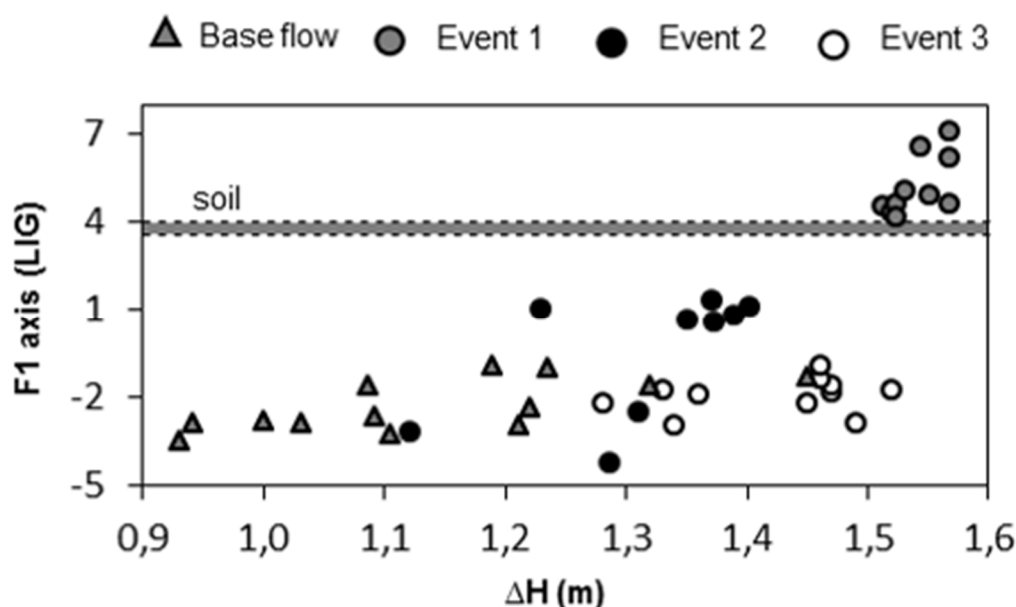


Figure 4-6 : Evolution of LIG distribution evidenced by PCA analysis as a function of ΔH .

4.3 Are these modifications recorded in the stream DOM?

As evidenced in this study and previous works (Jeanneau et al., 2015), the stream DOM composition was modified during storm events. These modifications are recorded during the event, as well as during the falling limb of the hydrograph when the level of discharge returned to the base flow conditions for events 2 and 3 (Figure 4-3). Three possible origins could explain the modification of the stream DOM composition.

The first one is proposed by Dalzell et al., (2005) and Hernes et al., (2008) who attributed the modifications of the stream DOM composition to the chemical equilibrium between soil particles in the stream. The experimental modelling of this process by shaking soil with water was found to produce small amounts of DOC compared to the increase in the DOC concentration measured over the different storm events. Moreover, the DOM produced was characterized by low C/V values, in contrast with the high C/V values measured in the

stream during storm flow. Consequently, assuming that the experimental conditions were representative of natural conditions, the contribution of this mechanism to DOM production could be considered as negligible in headwater catchments.

The second origin could be the contribution of the soil solution to the stream. Previous works performed on the Kervidy-Naizin catchment (Morel et al., 2009) or in other headwater catchments (Inamdar et Mitchell, 2006; Van Gaelen et al., 2014) have shown that during base flow periods, the stream water was mostly sustained by deep and shallow groundwater. However, during storm events, the increase in discharge was mostly due to the increase in the soil solution contribution (Lambert et al., 2011; Morel et al., 2009). As the same modifications were recorded in the soil solution and stream DOM composition during storm events, the soil solution may be a possible origin of stream water DOM modification during storm events.

The third origin could be the contribution of surface runoff. During storm events, it may represent a large flux of water (Delpla et al., 2011) containing a large amount of DOC and POC into the stream (Caverly et al., 2013). Furthermore, surface runoff DOM and soil solutions sampled during storm events have a similar molecular composition (Figure 4-4 and 4-5).

To investigate the contribution of the three sources (soil solution, surface runoff and groundwater) to the stream during storm events, PCAs were performed using the chloride, nitrate and sulphate concentrations. The use of chemical components such as these is common in order to trace the contribution of sources to the stream (Hooper et al., 1990; Lambert et al., 2014; Morel et al., 2009). The soil solution analysis revealed variable concentrations during the event (Supplementary Figure 4-S1). In order to take this variability into account, the proportion of each source used in the PCA analysis was calculated using the soil solution that temporarily corresponds to the stream water. The three sources that contributed to stream discharge during storm flow satisfactorily explain the chemical evolution of the stream water. The simulated DOC concentrations were calculated by multiplying the proportions of each source by their respective DOC concentrations. The models match the observations as the correlation coefficients between the measured and estimated values are 0.67 and 0.74 for events 1 and 2, respectively (Supplementary Figure 4-S3). The estimated fractions were used to calculate their respective contribution to the stream DOC concentration. During events 1 and 2, deep groundwater contributes less than 1 mg L⁻¹ to DOC export. Most of the DOC exported by the stream comes from soil solutions and surface runoff (Figure 4-7). Events 1

and 2 occurred when the soils were saturated over a large part of the catchment as indicated by the high ΔH value (Figure 4-3), which favoured the generation of surface runoff (Bronstert et Bardossy, 1999). Due to these conditions, the higher rainfall amount during event 1 (31 mm during 15 h) than during event 2 (18 mm during 41 h) could explain the higher surface runoff contribution to the stream DOC. The relative proportion of each of these two sources varied both during the event as well as among events, depending on their hydrological characteristics. Consequently, changes in the DOM molecular composition in soil solution and the contribution of surface runoff to DOM export could be responsible for the modification of the molecular composition observed in the stream water.

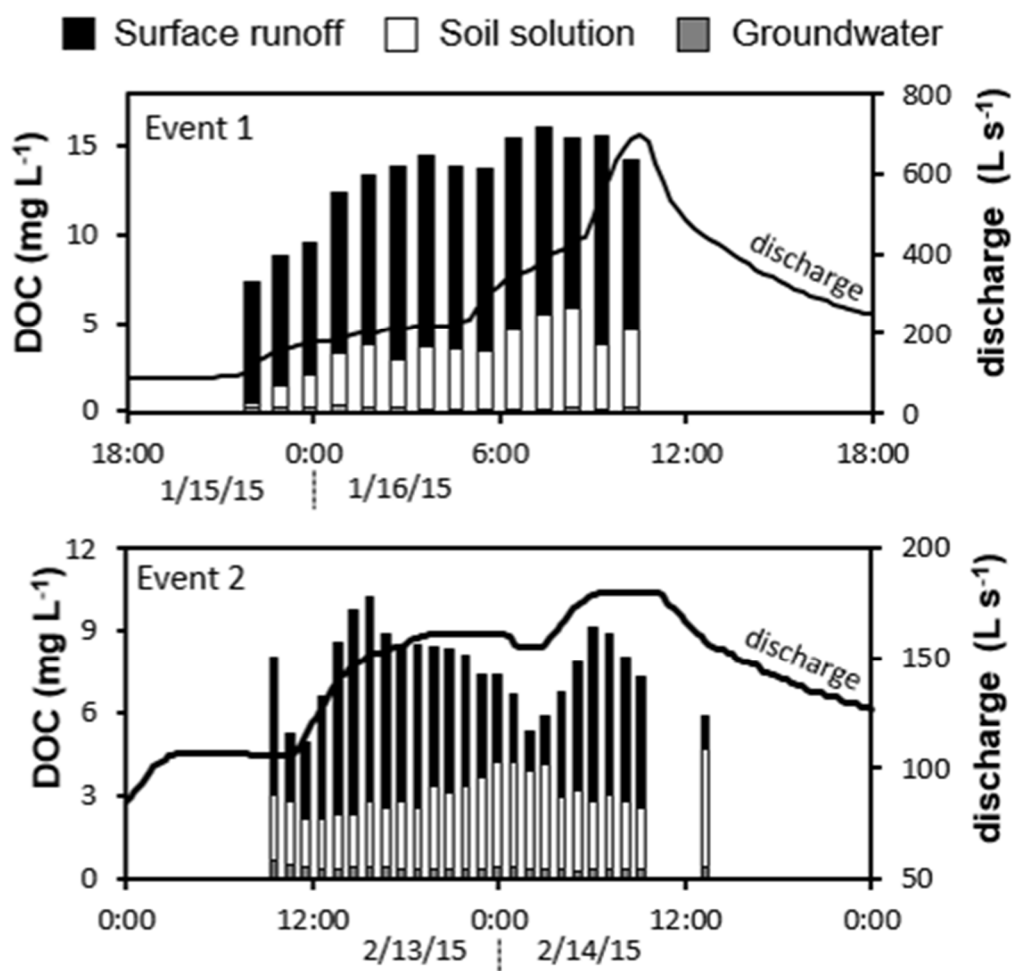


Figure 4-7 : Estimated contribution of surface runoff, soil solution and groundwater to stream DOC export.

4.4 Conceptual model for colloidal-DOM mobilization in soil solutions during storm events

During base flow conditions, DOM came from biotic and abiotic solubilization in the soil microporosity (Toosi et al., 2012). DOM is then transferred to the soil macroporosity by diffusion which is driven by concentration gradients. As a reactive component, DOM can interact with metals and minerals during its transfer along the micro-to-macroporosity continuum. Thus, DOM can be adsorbed on mineral or clay surfaces (Jardine et al., 1989; Kaiser et Kalbitz, 2012) and can be biodegraded by microorganisms according to meeting probabilities (Dungait et al., 2012). Compared to base flow conditions, the increase in the hydrological gradient during storm events induces an increase in the water velocity in the macropores. This increase should not impact the DOM diffusion rate, resulting in a decrease in the DOC concentration in the soil solution due to a dilution effect (Easthouse, 1992). The increase in the DOC concentrations and the modification of the composition of the soil DOM during storm events (Figure 4-3, 4-4 and 4-5) implies that an additional mechanism of DOM solubilization should be considered. This mechanism would be dependent on the hydrological gradient (Figure 4-6) and the pre-event hydrological conditions as illustrated by the comparison between events 1 and 3.

From these observations we can formulate two hypothesis regarding the mobilization of DOM during storm events. First, DOM could come from the mobilization of colloids and soil particles containing organic matter. Numerous studies have highlighted the mobilization of colloids and soil particles in columns (Laegdsmand et al., 1999; Majdalani et al., 2008; Mohanty et al., 2015; Zhuang et al., 2007) and field studies (Jarvis et al., 1999; Zhang et al., 2016) due to an increasing water velocity. The rise of the water table during storm flow conditions induced an increase in the water pressure and velocity in the soil macroporosity, which could be related to a piston-like effect (Zhao et al., 2017). This would lead to an application of shear forces on the colloids and particles located on the walls of the macropores (Bergendahl et Grasso, 2003; Shang et al., 2008). If the shear forces are stronger than the forces that attach the colloids to the macropore wall, colloids will be released into the soil solution (DeNovio et al., 2004; Ryan et al., 1998) (Figure 4-8). This mechanism of colloidal and particulate destabilization is consistent with the threshold highlighted in Figure 4-6 where it seems that ΔH must be exceeded in order to create a sufficient shear force to initiate the destabilization. This is also consistent with the largest modification of the LIG composition

recorded for the highest ΔH since these hydrological conditions are responsible for the largest colloidal destabilization. Moreover, the pre-event hydrological conditions are also consistent with this physical destabilization. The colloidal and particulate supply available for mobilization appears to be size-limited and renewable (Jarvis et al., 1999; Majdalani et al., 2008). Thus, the pre-event hydrological conditions will impact the possibility to rebuild this supply.

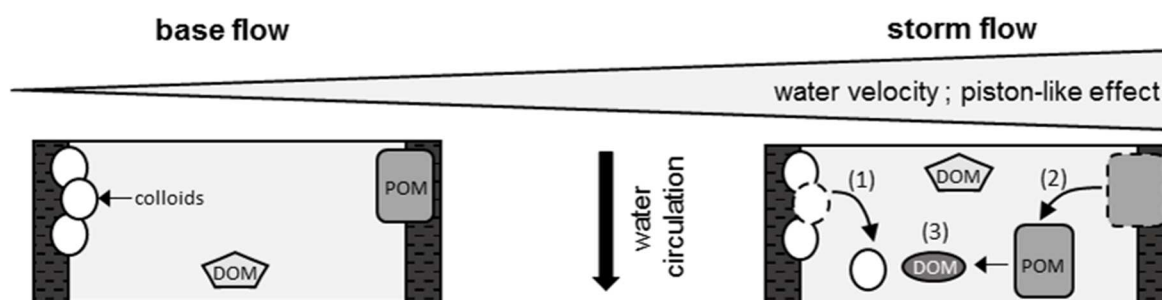


Figure 4-8 : Schematic representation of DOM mobilization mechanisms involved during storm events in soils. Mobilisation of DOM during storm flow conditions by (1) colloidal destabilization and/or (2) particulate destabilization combined with (3) chemical equilibrium processes.

However, the chemical composition of DOM during storm events differs from the SOM composition. The molecular analysis of soil DOM from the three storm events investigated highlight the differences in the molecular composition variations that exist between LIG, FA and CAR. For the event 1, where the ΔH values were the highest, the distribution of LIG in the dissolved phases was similar to their distribution in SOM (Figure 4-5). However, CAR and FA were characterized by a different evolution. Variations in the FA and CAR distributions between base flow and storm flow conditions are low. Depending on the events, the FA distribution is significantly different from the base flow conditions, and the CAR distribution was not significantly different from the base flow conditions for the three events. Furthermore, the distribution of both FA and CAR in DOM always remains significantly different from their distribution in SOM (Figure 4-5). Which mechanism could explain the different behaviour of these three molecular classes? Among all of the FA identified in SOM, $13 \pm 3\%$ were FA derived from cutines and suberines which came from a plant origin (Chefetz et al., 2002; Nierop et Verstraten, 2004). These molecules were not

identified in the soil solutions. This absence could be linked to their high hydrophobicity (Kolattukudy, 1984). Similarly, $67 \pm 3\%$ of the CAR identified in the soils are hexoses, mainly coming from the thermochemolysis of cellulose, a polymer of glucose which is highly hydrophobic (Krässig, 1993). There is very little cellulose in the solution which could explain the differences in the CAR distribution between the soil and soil solutions. However, LIG are less hydrophobic than FA and CAR. These different behaviours of macromolecules during their solubilization from the soil to the soil solution are thus consistent with the hypothesis of a combined physical mechanism and chemical segregation based on the hydrophobicity of the macromolecules. This chemical segregation could take place during the formation of colloids and particles on macropore walls or upon their mobilization. Since a comparable composition was observed between the soil solution and the surface runoff DOM, the same mechanism could be applied for surface runoff with shear forces applied by the runoff of water on the soil surface.

5. Conclusion

For the first time, the molecular composition of DOM was simultaneously investigated in soil solutions, surface runoff and stream water during storm events with high frequency sampling. The major conclusions of this study are the following:

- (i) The modifications of the DOM composition in soil solutions and the generation of surface runoff are responsible for the changes in the DOM composition in stream water during the establishment of storm flow conditions.
- (ii) The changes in the DOM molecular composition is due to a combination of physical and chemical mechanisms. The increase in the water velocity in the macropores induces the destabilization of colloids and soil particles composed of organic matter. A chemical segregation could be responsible for the changes in the molecular composition between SOM and soil DOM based on the hydrophobicity of the organic macromolecules.
- (iii) Low water velocity and favourable hydrological conditions in soils are necessary to rebuild the colloidal and particulate supply. Therefore, their mobilization during storm events is dependent on the pre-event hydrological conditions.

These changes in the DOM composition should be taken into account for a better understanding of micropollutant mobility. As the complexation of micropollutants (e.g. pesticides) with OM is mainly driven by hydrophobicity, the export of less biodegraded DOM during storm events may have increased their diffusion across the environment. Moreover, an increase in storm frequency and intensity over the next decades, as predicted by climatologists (Coumou and Rahmstorf, 2012), could increase the export of DOM produced during storm events and thus the dispersion of pollutants in the environment.

Tableau 4-S1 : List of the analysed compounds and their appropriate m/z ratio and mass spectra factor (MSF). * indicate compounds retained for PCA analysis.

Compound name	m/z	MSF
Lignin phenols		
* 3,4-dimethoxyacetophenone (acetovanillone)	165	2,8
* 3,4-dimethoxybenzaldehyde (vanillin)	166	4,2
* 3,4-dimethoxybenzoic acid, methyl ester (vanillic acid)	196	5,6
* 3,4,5-trimethoxyacetophenone (acetosyringone)	195	4,8
* 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (syringaldehyde)	196	6,7
* 3,4,5-trimethoxybenzoic acid, methyl ester (syringic acid)	226	5,3
* 3-(4-methoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (p-coumaric acid)	192	6,7
* 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-prop-2-enoic acid, methyl ester (ferulic acid)	222	3,7
* 4-methyl-1,2-dimethoxybenzène	152	5,7
* 1,2,4-trimethoxybenzène	168	4,3
* 1,3,5-trimethoxybenzène	168	3,0
* 3-methoxybenzoic acid methylester	135	3,9
* 4-methoxybenzoic acid methylester	135	2,8
1,2,3,4-tetramethylbenzène	198	3,5
* 1,2,3,5-tetramethylbenzène	198	13,5
* cis-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene	194	5,1
* trans-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxyethenyl)benzene	194	5,1
1,2-Dimethoxy-4-(1-methoxy-1-propenyl)benzene	208	6,2
cis-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,7
trans-1,2-Dimethoxy-4-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,7
trans-1,2-Dimethoxy-4-(3-methoxy-1-propenyl)benzene	208	5,6
* cis-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxyethenyl)benzene	224	7,0
trans-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxyethenyl)benzene	224	7,0
* erythro-1,2-dimethoxy-4-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	181	3,6
threo-1,2-dimethoxy-4-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	181	3,6
cis-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	238	7,0
trans-1,2,3-Trimethoxy-5-(2-methoxy-1-propenyl)benzene	238	7,0
cis-1,2-Dimethoxy-4-(2,3-dimethoxy-1-propenyl)benzene	238	8,5
trans-1,2-Dimethoxy-4-(2,3-dimethoxy-1-propenyl)benzene	238	8,5
* erythro-1,2,3-Trimethoxy-5-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	211	2,1
threo-1,2,3-Trimethoxy-5-(1,2,3-trimethoxypropyl)benzene	211	2,1
benzoic acid methyl ester	105	2,9
Carbohydrates		
* xylose (C5)	129	4,0
* rhamnose (deoxyC6)	129	4,0
* fucose (deoxy C6)	129	4,0
* glucose (C6)	129	4,0
* galactose (C6)	129	4,0

Table 4-S1 continued

Compound name	m/z	MSF
Fatty acids		
* C _{12:0}	74	3,0
* C _{13:0}	74	4,1
* brC _{14:0}	74	3,1
* C _{14:0}	74	3,1
* isoC _{15:0}	74	3,3
* anteC _{15:0}	74	3,3
* C _{15:0}	74	3,3
* brC _{16:0}	74	4,9
* C _{16:1}	74	14,5
* C _{16:0}	74	4,9
* isoC _{17:0}	74	3,9
* anteC _{17:0}	74	3,9
* C _{17:0}	74	3,9
* C _{18:1}	74	14,6
* C _{18:0}	74	4,5
* ω-OH C _{16:0}	74	12,1
* C _{19:0}	74	4,3
* α,ω diacid C _{16:0}	74	11,3
C _{20:0}	74	4,9
* ω-OH C _{18:0}	74	17,3
C _{21:0}	74	7,5
* α,ω diacid C _{18:0}	74	17,7
C _{22:0}	74	4,9
* ω-OH C _{20:0}	74	12,9
C _{23:0}	74	8,4
* α,ω diacid C _{20:0}	74	10,8
C _{24:0}	74	4,4
* ω-OH C _{22:0}	74	13,5
* C _{25:0}	74	7,7
* α,ω diacid C _{22:0}	74	10,8
* C _{26:0}	74	4,5
* ω-OH C _{24:0}	74	13,5

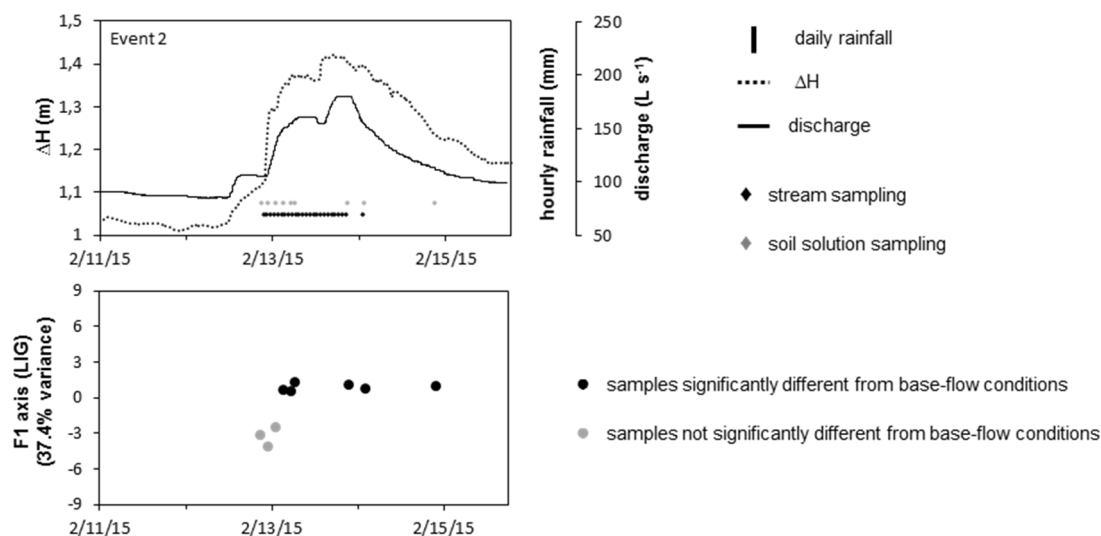


Figure 4-S1 : Evolution of LIG distribution during event 2.

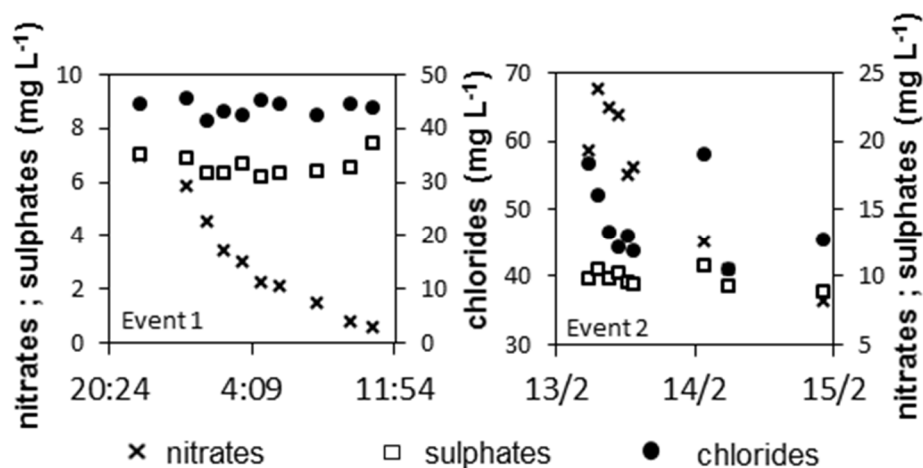


Figure 4-S2 : Concentration of nitrates, sulphates and chlorides in soil solutions during events 1 and 2.

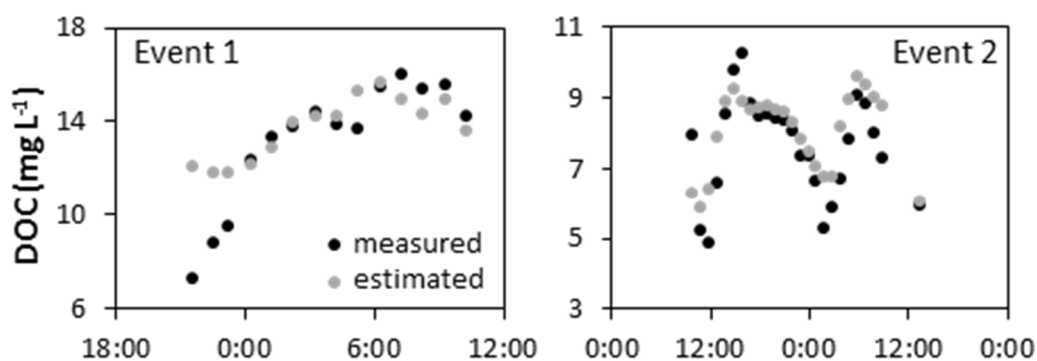


Figure 4-S3 : Comparison of DOC concentration measured at the outlet and DOC concentration estimated from deep groundwater, soil solution, surface runoff concentrations and their relative contribution to the discharge for events 1 and 2.

Chapitre 5

Hétérogénéité et évolution de la
composition moléculaire des MOD à
l'échelle du bassin versant

Avant-propos

L'échantillonnage effectué toutes les deux semaines pendant trois années hydrologiques successives a permis d'étudier l'évolution saisonnière de la composition des MOD aux différents points de prélèvements du bassin versant. Deux problématiques ont pu être abordées à travers les résultats obtenus à partir de cet échantillonnage.

Dans une première partie, nous nous intéresserons à l'utilisation de la HMT-CPG-SM comme outil de détection de l'hétérogénéité spatiale de la composition moléculaire de la MOD présente dans les solutions de sol, à l'échelle d'un petit bassin versant de tête. Cette problématique sera abordée à travers deux questions :

- (i) L'hétérogénéité des écosystèmes observée entre les différents points du bassin versant induit-elle une hétérogénéité de la composition des MOD des solutions de sol identifiable par HMT-CPG-SM ?
- (ii) Observe-t-on une évolution de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol avec la profondeur ?

Ces questions seront traitées en regardant la concentration en COD ainsi que la distribution des phénols, issus de la réaction des lignines et des tannins, biomarqueurs d'origine végétale d'une part et la distribution des acides gras phospholipidiques, biomarqueurs d'origine microbienne d'autre part.

Dans une deuxième partie, nous nous intéresserons à la question de la constitution d'un réservoir de MOD localisé dans le versant et de son transfert vers la rivière lors de la mise en place d'une connectivité hydrologique en lien avec la dynamique de nappe. Sur le bassin versant de Kervidy-Naizin, cette hypothèse de transfert a été suggérée par les travaux de Lambert et al., (2014) via une interprétation de l'évolution du rapport isotopique $\delta^{13}\text{C}$ dans les solutions de sol prélevées dans la zone humide du Mercy et à l'exutoire. Nous la traiterons donc à travers la question suivante : La combinaison des analyses isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$) et moléculaire par HMT-CPG-SM permet-elle de mettre en évidence un transfert de versant lors de la mise en place de connections hydrologiques ?

PARTIE 1 :

Hétérogénéité spatiale de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol à l'échelle du bassin versant

1. Introduction

Les matières organiques dissoutes (MOD), présentes dans les solutions de sol en circulation dans la macroporosité, sont le résultat de la solubilisation et de la dégradation de la matière organique provenant de la litière, des sols, de la biomasse microbienne ou encore des exsudats racinaires. La composition des MOD est ainsi représentative des apports végétaux et de l'activité des microorganismes des sols par lesquels elle a transité.

Parmi l'ensemble des molécules constitutives de la MOD, les lignines sont utilisées comme biomarqueurs moléculaires spécifiques de l'origine végétale de la MO. La composition des lignines étant dépendante du type de végétation (Cliffort et al., 1995; Hedges et Mann, 1979), la distribution des phénols issus de l'analyse des lignines dissoutes est modifiée lorsque les sources végétales changent (Aufdenkampe et al., 2007).

Au sein des acides gras identifiables dans la MOD des solutions de sol, les acides gras phospholipidiques (PLFA) sont des biomarqueurs moléculaires spécifiques de l'activité des microorganismes des sols tels que les bactéries et les champignons (Bossio et Scow, 1998; Zelles et al., 1992). Certains de ces acides gras étant spécifiques de certaines espèces ou grands groupes de bactéries, leur distribution sont couramment utilisées dans le but de distinguer des changements de composition de communautés bactériennes (Drenovsky et al., 2004). L'abondance et la diversité des communautés microbiennes est variable d'un sol à un autre. Plusieurs paramètres ont ainsi été identifiés comme pouvant impacter la nature et la dynamique des communautés bactériennes comme le pH des sols (Rousk et al., 2010), la végétation (Xue et al., 2008), la saturation en eau des sols et la disponibilité en oxygène (Bossio et Scow, 1998) ou encore la température des sols (Zogg et al., 1997).

L'influence conjuguée de tous ces paramètres résulte en une variabilité importante de la composition des MOD à l'échelle du paysage. La composition moléculaire de la MOD a par conséquent été utilisée dans le but de différencier plusieurs types d'écosystèmes. Jusqu'à

présent, ce type de problématique a principalement été abordée en utilisant la composition moléculaire déterminée par spectrométrie de masse à très haute résolution par FT-ICR-MS. Il a été mis en évidence une modification de la composition des MOD au sein d'un même bassin versant en fonction des écosystèmes et de la profondeur d'échantillonnage dans le profil de sol (Roth et al., 2014; Seifert et al., 2016). Dans le cadre de cette étude, cette problématique a été appliquée à l'échelle d'un petit bassin versant de tête en utilisant la composition moléculaire obtenue par HMT-CPG-SM. Cette méthode présente deux avantages par rapport à la spectrométrie de masse à très haute résolution : (i) l'outil analytique est moins coûteux et (ii) sa mise en œuvre ne nécessite pas d'hypothèse quant à la transformation du signal.

2. Matériel et méthode

2.1 Echantillonnage

L'ensemble des données utilisées dans cette partie proviennent de l'échantillonnage bimensuel effectué sur le bassin versant de Kervidy-Naizin entre Octobre 2013 et Juin 2016, couvrant ainsi les trois années hydrologiques consécutives. La base de données utilisée regroupe les échantillons de solutions de sol prélevées sur les transects de Guériniac et Kerrolland ainsi qu'au niveau de la zone humide du Mercy, dans les horizons de surface et dans les horizons profonds. Une description plus détaillée de ces points d'échantillonnages est disponibles dans le Chapitre 2, section 1.3. L'ensemble des échantillons ont suivi le traitement analytique décrit dans le Chapitre 2, sections 2.

2.2 Traitement statistique

Deux ACP ont été réalisées à partir des données de composition moléculaire dans le but de déterminer l'hétérogénéité spatiale sur le bassin versant. La première ACP a été faite à partir de la distribution des phénols. La deuxième ACP a été faite à partir de la distribution des acides gras phospholipidiques (PLFA), qui proviennent de l'activité des microorganismes. L'élimination des acides gras végétaux et des acides gras ubiquistes ($C_{16:0}$ et $C_{18:0}$) pour ce test statistique a pour but de se focaliser sur le fonctionnement microbiologique des sols entre les

différents points de prélèvement du bassin versant. Une description plus détaillée sur les paramètres de l'ACP est disponibles dans le Chapitre 2, sections 2.

Pour ces deux ACP, une ANOVA a été réalisée sur les coordonnées des échantillons sur la composante 1 afin de déterminer si le paramètre « localisation du point de prélèvement » sur le bassin versant permet d'expliquer la variance des échantillons.

Tout au long des trois années de suivi, certains échantillons ont été prélevés pendant des évènements de crue du fait de l'échantillonnage systématique effectué toutes les deux semaines. La composition moléculaire de la MOD contenue dans les solutions de sol pouvant être modifiée en période de crue (cf. Chapitre 4), ces échantillons ont été supprimés du jeu de données pour ces analyses. Cela a permis d'enlever les points qui auraient pu introduire une variance supplémentaire dans les échantillons, non attribuables à une différence de localisation sur le bassin versant. Ainsi, quatre dates ont été supprimées (19/12/13, 27/12/2013, 16/12/2014 et 20/01/2016).

3. Résultats

3.1 Dynamique de nappe

La dynamique de nappe sur les transects de Kerrolland et Guériniéc présente des caractéristiques différentes (Figure 5-1).

Sur le transect de Kerrolland, les sols en bas de versant (K1) et dans la partie haute du versant (K3) sont caractérisés par une période de saturation prolongée qui débute avec la remontée de la nappe à l'automne et se termine au printemps lors de la diminution des précipitations.

A l'inverse, sur le transect de Guériniéc, la période hivernale est marquée par un battement de nappe avec une succession de phases de saturation de durée limitée et de phases de désaturation où la nappe reste entre 30 et 50 cm de profondeur.

3.2 Evolution de la concentration en COD

Sur l'ensemble des points de prélèvement du bassin versant, les concentrations en COD des solutions de sol varient de 0,5 (M-10 cm le 30/11/15) à 43,7 mg/L (G2-15 cm le 29/10/13) (Figure 5-2). Pour l'ensemble des points de prélèvement du bassin versant, les solutions de sol

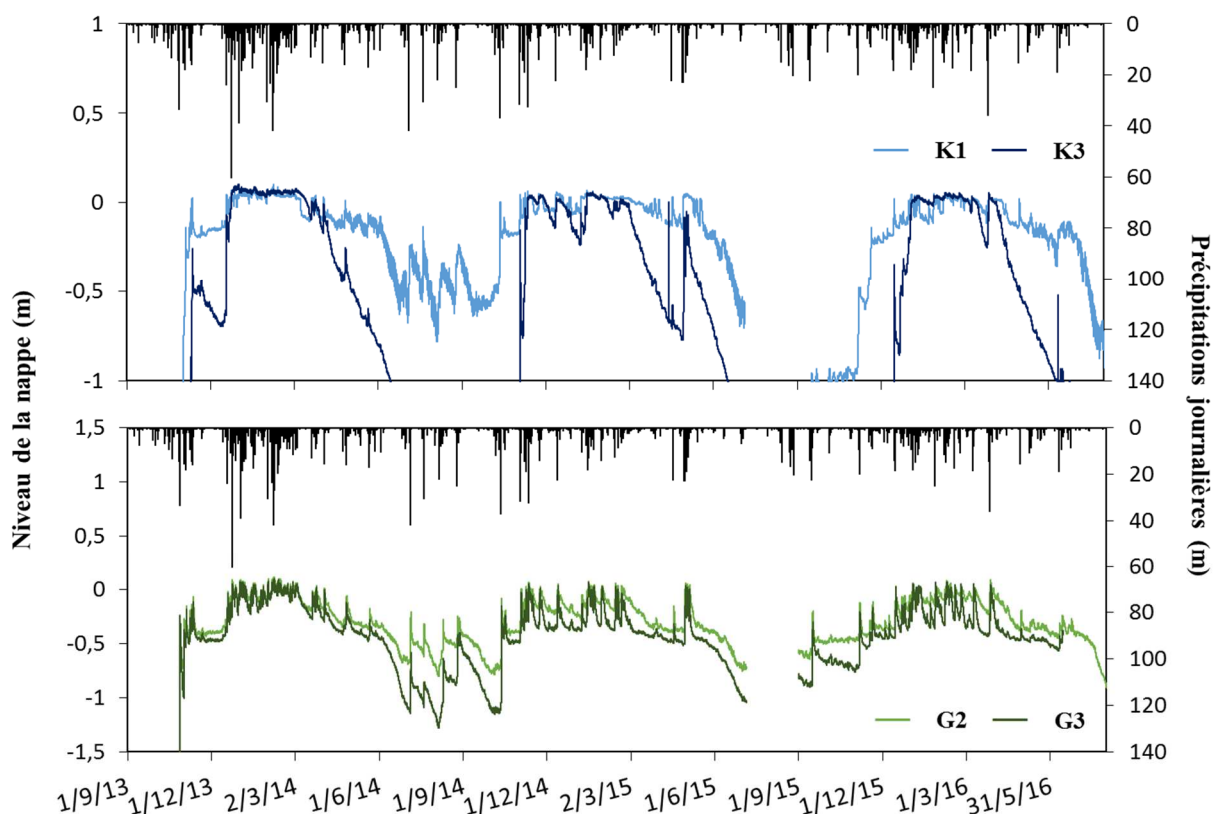


Figure 5-1 : Evolution de la dynamique de nappe sur les transect de Kerrolland (K1 et K3) et Guériniec (G2 et G3).

prélevées dans les horizons profonds sont caractérisées par une concentration plus faible. Sur les trois ans, la différence de concentration est en moyenne de $4,8 \pm 5,5$ mg/L à K1, $3,6 \pm 3,7$ mg/L à K3, $9,8 \pm 5,5$ mg/L à G2 et $10,9 \pm 9,5$ mg/L à G3 (moyenne $\pm$ écart type). Une exception est cependant observable dans la zone humide du Mercy lors de la troisième année avec une concentration supérieure de $13,7 \pm 5,6$ mg/L en moyenne dans l'horizon profond par rapport à l'horizon de surface sur cette troisième année tandis que les deux premières années, les concentrations étaient supérieures de $1,9 \pm 6,7$ mg/L (moyenne $\pm$ écart type) dans l'horizon de surface.

Pour les trois années de suivi, la dynamique d'évolution de la concentration en COD de l'horizon de surface et de l'horizon profond est similaire pour les points K1, K3 et M. Au contraire, pour les points G2 et G3, l'évolution de la concentration en COD des deux horizons présente plus de variabilités.

Au point K1, la concentration diminue progressivement au cours de la première moitié de l'année hydrologique pour atteindre respectivement 5,7 ; 9,5 et 8,1 mg/L dans l'horizon de surface au cours des trois années. Les concentrations augmentent alors rapidement, jusqu'à 38,9 ; 27,5 et 22,3 mg/L au cours des trois années. Pour la première et la troisième année, la diminution de la concentration en fin d'année est observée.

Au point K3, la concentration diminue progressivement tout au long de l'année, de 12,8 à 2,7 mg/L la première année, de 13,8 à 7,5 mg/L la deuxième année et de 17,6 à 4,0 mg/L la troisième année dans l'horizon de surface. La fin de l'année hydrologique est marquée par une augmentation des concentrations pour atteindre à nouveau une concentration proche de celle observée au début d'année hydrologique.

Dans la zone humide du Mercy, les concentrations en COD augmentent progressivement tout au long de l'année pour atteindre respectivement 32,2 ; 33,8 et 15,8 mg/L dans l'horizon de surface au cours des trois années. Pour la deuxième et la troisième année, les concentrations ont diminué en fin d'année hydrologique pour atteindre respectivement 19,5 et 5,4 mg/L.

Aux points G2 et G3, les concentrations moyennes en COD des solutions de sol sont supérieures à celles observées sur les autres points du bassin versant avec $28,0 \pm 5,9$ mg/L en moyenne dans l'horizon de surface à G2 et $27,0 \pm 7,9$ mg/L à G3 (moyenne $\pm$ écart type). Contrairement aux autres points de suivi du bassin versant, l'évolution de la concentration en COD diffère entre l'horizon de surface et l'horizon profond. L'évolution est également variable d'une année à l'autre.

3.3 Evolution de la concentration en Fe II

La présence de Fe II en solution est utilisée comme un marqueur de la bioréduction des oxydes de fer. Le cation Fe II n'est pas observable sur l'ensemble des points de prélèvement (Figure 5-2). Sur le point K3, seules les solutions de sol prélevées dans l'horizon profond au cours de la deuxième année de suivi contiennent du Fe II, avec un maximum de 6,9 mg/L. Aux points G2 et G3, dans l'horizon de surface et l'horizon profond, les concentrations en Fe II fluctuent pendant la période hivernale, avec des concentrations pouvant atteindre au maximum 7,9 mg/L à G2 et 8,1 mg/L à G3. Les horizons profonds étant ceux où les concentrations sont les plus élevées.

Au point K1, la concentration en Fe II augmente en fin d'année hydrologique dans les solutions de sol prélevées aux deux profondeurs. Les concentrations les plus élevées sont là encore

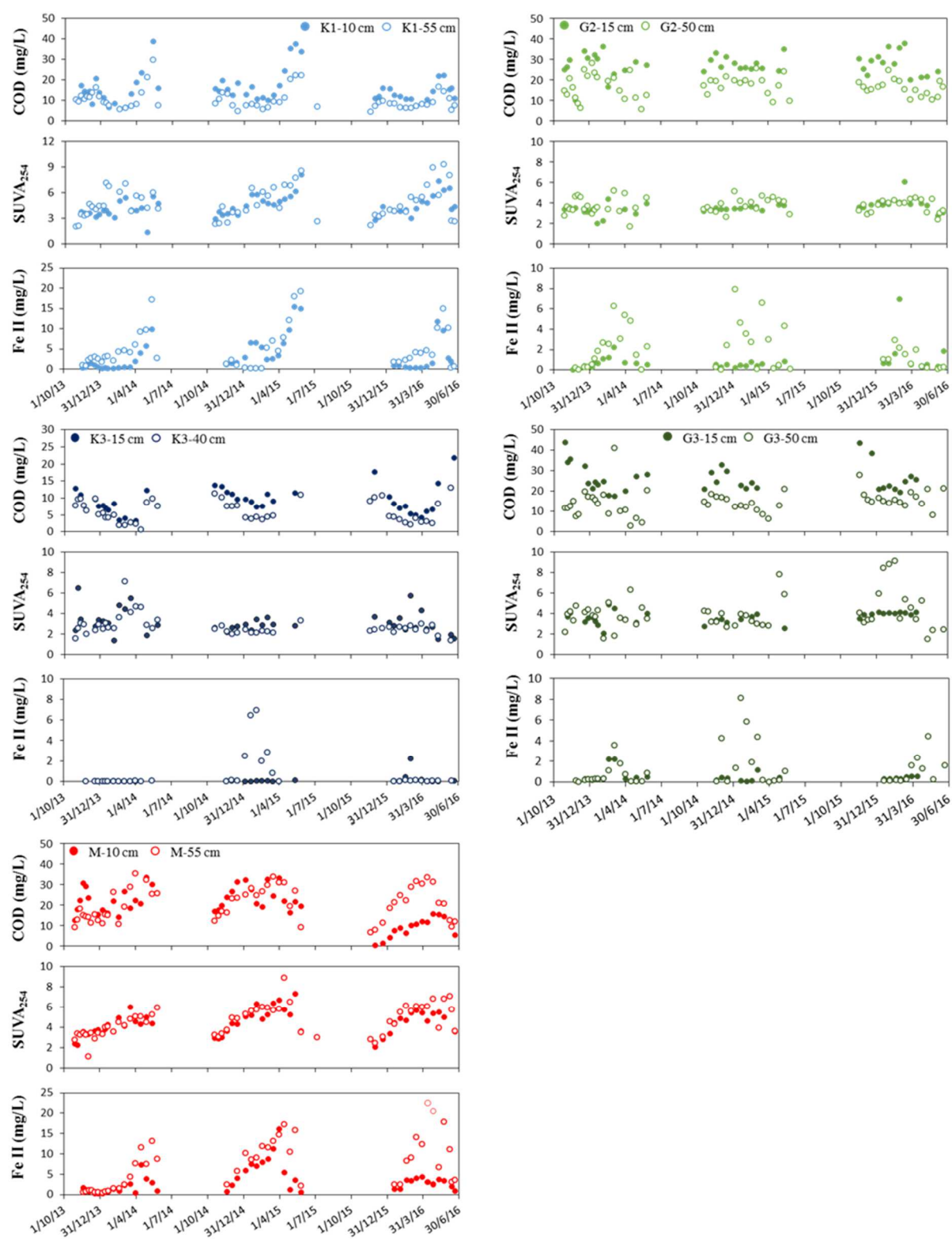


Figure 5-2: Evolution du SUVA₂₅₄ ainsi que la concentration en COD et en Fe II pendant les trois années de suivi pour les différents points de prélèvement situés sur le bassin versant de Kervidy-Naizin.

observées dans l'horizon profond. Les concentrations maximales atteignent 17,2 mg/L la première année, 19,2 mg/L la deuxième année et 14,9 mg/L la troisième année. La diminution des concentrations dans les deux horizons est observée lors de la première et la troisième année. Dans la zone humide du Mercy, l'évolution de la concentration en Fe II diffère au cours des trois années. La première année, la concentration en Fe II augmente à partir de la deuxième moitié de l'année hydrologique pour atteindre 7,4 mg/L dans l'horizon de surface et 13,2 mg/L dans l'horizon profond. La diminution de la concentration est observée uniquement dans l'horizon de surface. La deuxième année, la concentration augmente progressivement dès le début de l'année pour atteindre 16,1 mg/L dans l'horizon de surface et 17,2 mg/L dans l'horizon profond. La diminution brutale des concentrations en fin d'année hydrologique est observée aux deux profondeurs. La troisième année, l'augmentation de la concentration est la plus faible dans l'horizon de surface avec un maximum de 4,3 mg/L. Dans l'horizon profond les concentrations augmentent progressivement pour atteindre 22,5 mg/L puis diminuent progressivement en fin d'année hydrologique.

3.4 Evolution du SUVA₂₅₄

Les points G2 et G3 sont caractérisés par de faibles variations du SUVA₂₅₄ aux deux profondeurs d'échantillonnage pendant les trois années de suivi (Figure 5-2). Au point G2, le SUVA₂₅₄ est de $3,6 \pm 0,7$ L/mgC.m à 15 cm et $3,9 \pm 1,2$ L/mgC.m à 50 cm. Au point G3, le SUVA₂₅₄ est de $3,6 \pm 0,6$ L/mgC.m à 15 cm et $4,1 \pm 1,7$ L/mgC.m à 50 cm.

Au point K3, on observe une tendance à l'augmentation du SUVA₂₅₄ pendant la première année. L'augmentation se fait de 2,4 à 5,5 L/mgC.m à 15 cm et de 1,6 à 7,1 L/mgC.m à 40 cm. Les deux autres années hydrologiques sont marquées par une stabilité du SUVA₂₅₄ avec $3,4 \pm 0,8$ L/mgC.m à 15 cm et $3,2 \pm 0,9$ L/mgC.m à 40 cm.

Les points K1 et M sont caractérisés par une augmentation progressive du SUVA₂₅₄ aux deux profondeurs d'échantillonnage au cours des trois années hydrologiques. Les deux profondeurs étant caractérisées par des valeurs comparables. L'augmentation se fait sur une gamme de valeurs comprises entre 2,1 et 9,4 L/mgC.m à K1 et entre 1,1 et 7,4 L/mgC.m à M.

3.5 Les phénols

Les deux composantes principales de l'ACP réalisée à partir des phénols permettent de représenter 43,3% de la variance (Figure 5-3). De plus, la p-value $<0,05$ de l'ANOVA réalisée à partir des coordonnées sur la composante 1 de l'ACP indique que le paramètre « point de prélèvement » permet d'expliquer de manière significative la variance des échantillons (Tableau 5-1).

Pour les échantillons de solutions de sol prélevés dans les horizons de surface, le traitement ACP effectué sur la distribution des phénols a permis de différencier le point en sol cultivé (K3) des autres points du bassin versants situés en bande enherbée (G2 et G3) et en zone humide (K1 et M) (Figure 5-3). Les analyses statistiques appliquées sur les résultats de l'ACP ont permis de confirmer ces observations (Tableaux 5-2 et 5-3).

Pour les points situés dans la bande enherbée et dans les zones humides (G2, G3, K1 et M), le traitement ACP a permis de différencier les deux profondeurs d'échantillonnage (Figure 5-3). Cette observation est confirmée par les analyses statistiques (Tableaux 5-2 et 5-3). Cependant, pour le point de prélèvement K3 situé dans le versant agricole, la différence de distribution des phénols en fonction de la profondeur qui semble apparaître sur l'ACP n'a pas été confirmée par les analyses statistiques.

3.6 Les acides gras

Les deux composantes principales de l'ACP réalisée à partir des acides gras phospholipidiques permettent de représenter 44,9 % de la variance (Figure 5-4). De plus, la p-value $<0,05$ de l'ANOVA réalisée à partir des coordonnées sur la composante 1 de l'ACP indique que le paramètre « point de prélèvement » permet d'expliquer de manière significative la variance des échantillons (Tableau 5-4).

Pour les échantillons prélevés dans les horizons de surface, le traitement ACP effectué sur la distribution des acides gras phospholipidiques n'a pas permis de différencier les points d'échantillonnage du bassin versant (Figure 5-4). Les analyses statistiques appliquées sur les résultats ACP ont permis de confirmer ces observations (Tableaux 5-5 et 5-6). Il est à noter que les écarts-types autour des points moyens traduisent une variabilité au cours des trois années hydrologiques échantillonnées.

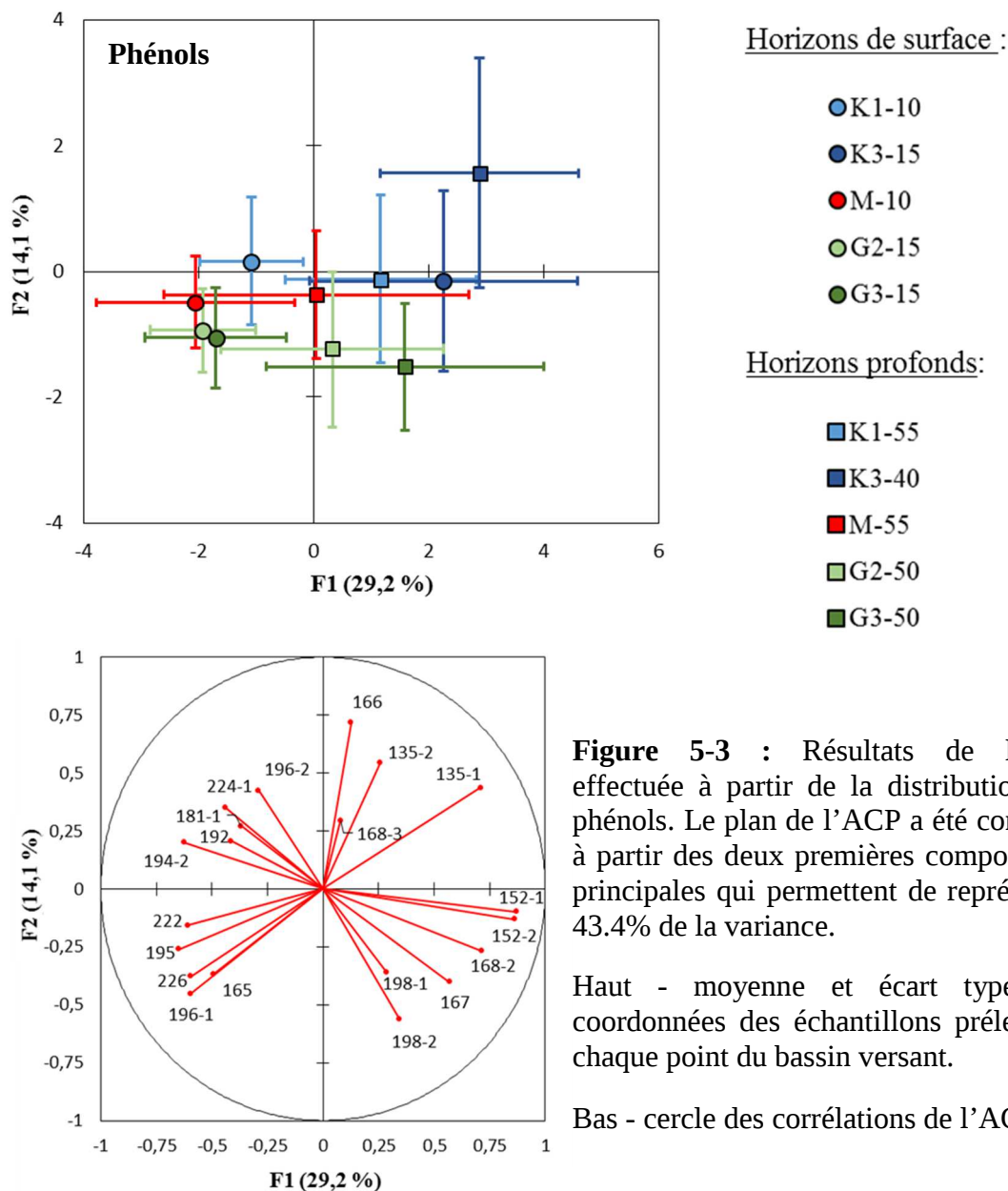


Tableau 5-1 : Tableau récapitulatif des résultats de l'ANOVA à un facteur effectué sur la distribution moléculaire des phénols. Le DDL correspond au nombre de degrés de liberté. Le test a été réalisé avec un intervalle de confiance à 95%.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	P
Modèle	9	851,7	85,2	25,527	< 0,0001
Résidus	338	1127,8	3,3		
Total	347	1979,5			

Tableau 5-2 : Matrice des corrélations obtenues par le test de Tuckey avec un intervalle de confiance à 95%. Les valeurs en gras indiquent les paires pour lesquelles la différence est significative.

	K1-10	K1-55	K3-15	K3-40	M-10	M-55	G2-15	G2-50	G3-15	G3-50
K1-10										
K1-55	<0,001									
K3-15	<0,001	0,32								
K3-40	<0,001	0,019	0,97							
M-10	0,49	<0,001	<0,001	<0,001						
M-55	0,16	0,25	<0,001	<0,001	<0,001					
G2-15	0,61	<0,001	<0,001	<0,001	0,99	<0,001				
G2-50	0,036	0,73	0,001	<0,001	<0,001	0,99	<0,001			
G3-15	0,98	<0,001	<0,001	<0,001	0,99	0,031	0,99	0,007		
G3-50	<0,001	0,99	0,94	0,29	<0,001	0,038	<0,001	0,23	<0,001	

Tableau 5-3 : Constitution des groupes sur la base des corrélations obtenues par le test de Tuckey (Tableau 5-2). Deux points de prélèvements appartenant à un même groupe ne sont pas significativement différents.

Points de prélèvement	Groupes									
K3-40	A									
K3-15	A	B								
G3-50	A	B	C							
K1-55		B	C	D						
G2-50			C	D						
M-55				D	E					
K1-10					E	F				
G3-15						F				
G2-15						F				
M-10						F				

Pour les points situés sur le transect de Kerrolland (K1 et K3), le traitement ACP semble montrer une évolution de la distribution des acides gras phospholipidiques avec la profondeur. Pour les autres points de prélèvement du bassin versant, cette évolution semble moins prononcée (Figure 5-4). Ces observations sont confirmées par les analyses statistiques qui révèlent une différence significative avec la profondeur de la distribution des acides gras phospholipidiques uniquement pour les points d'échantillonnage K1 et K3 (Tableaux 5-5 et 5-6).

4. Discussion

4.1 Concentrations en COD, FeII et SUVA₂₅₄

L'évolution du SUVA₂₅₄ et de la concentration en COD des solutions de sol aux différentes profondeurs et sur les différents points du bassin versant pendant les trois années de suivi ont permis de mettre en évidence une hétérogénéité à l'échelle du bassin versant. Ces différences pourraient refléter une hétérogénéité des écosystèmes présents aux différents points d'échantillonnage ainsi que des processus de solubilisation et d'export de la MOD différente.

4.1.1 Mise en place de conditions réductrices

Dans les zones humides ripariennes, à K1 et au Mercy, des conditions réductrices se mettent en place dans la macroporosité des sols dans l'horizon profond mais également dans l'horizon de surface. La mise en place de ces conditions réductrices avait déjà été observée pour la zone humide du Mercy (Lambert et al., 2013). Ces échantillonnages permettent de confirmer la mise en place de conditions similaires sur la zone humide riparienne K1. Pour les autres points de suivi du bassin versant, la mise en place de conditions réductrices de manière pérenne n'est pas observée. Une période de réduction peut tout de même être observée de manière ponctuelle, à K3-40 l'année 2014/2015, ainsi qu'à G2 et G3, essentiellement à 50 cm.

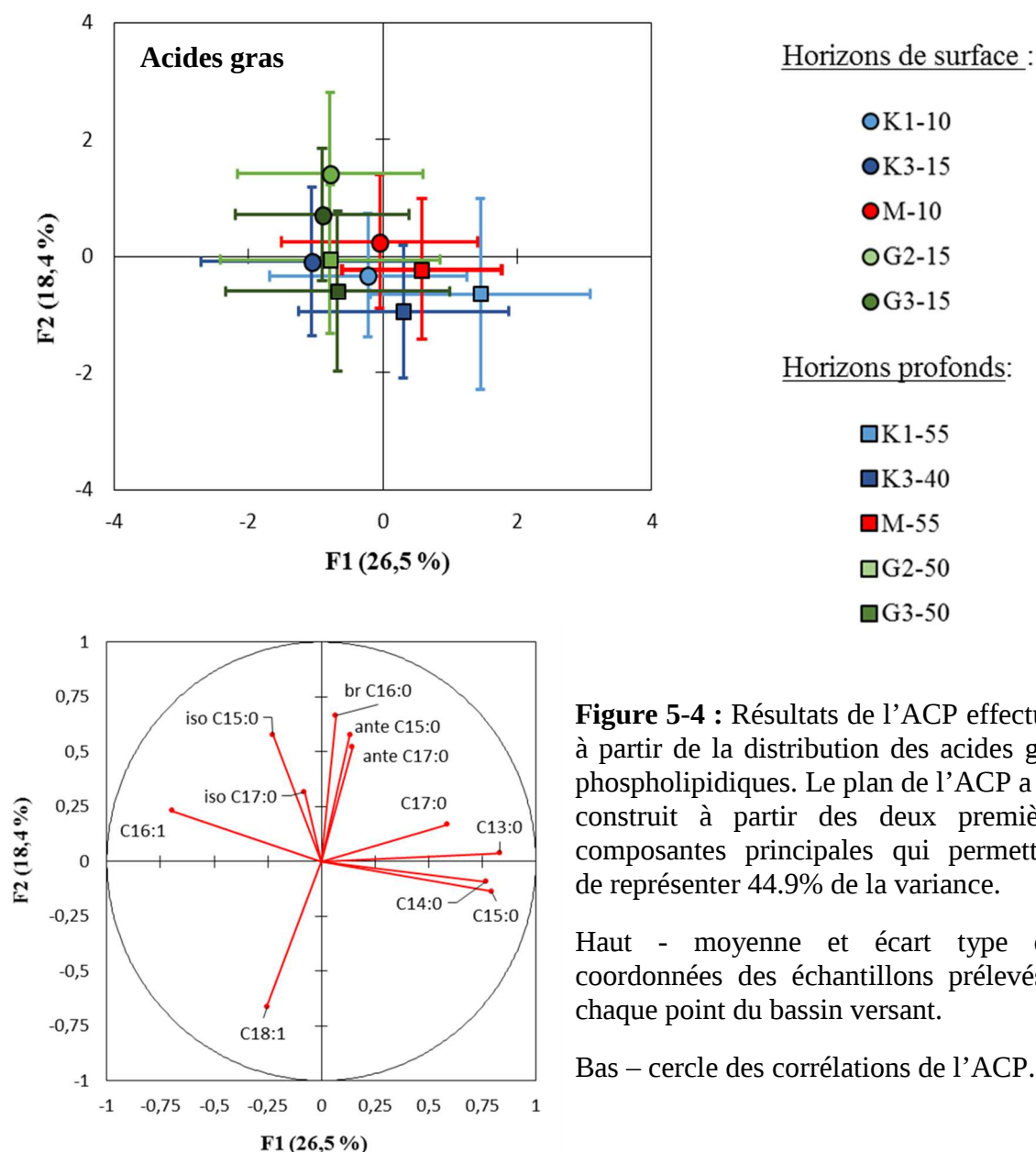


Tableau 5-4 : Tableau récapitulatif des résultats de l'ANOVA à un facteur effectué sur la distribution moléculaire des acides gras. Le DDL correspond au nombre de degrés de liberté. Le test a été réalisé avec un intervalle de confiance à 95%.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	P
Modèle	9	259,4	25,9	11,260	< 0,0001
Résidus	337	776,4	2,3		
Total	346	1035,9			

Tableau 5-5 : Matrice des corrélations obtenues par le test de Tuckey avec un intervalle de confiance à 95%. Les valeurs en gras indiquent les paires pour lesquelles la différence est significative

	K1-10	K1-55	K3-15	K3-40	M-10	M-55	G2-15	G2-50	G3-15	G3-50
K1-10										
K1-55	<0,001									
K3-15	0,35	<0,001								
K3-40	0,95	0,150	0,034							
M-10	0,99	0,006	0,25	0,99						
M-55	0,38	0,36	<0,001	0,99	0,86					
G2-15	0,86	<0,001	0,99	0,2	0,71	0,008				
G2-50	0,880	<0,001	0,990	0,23	0,73	0,011	0,99			
G3-15	0,86	<0,001	0,99	0,26	0,72	0,026	0,99	0,990		
G3-50	0,98	<0,001	0,99	0,44	0,91	0,047	0,99	0,99	0,99	

Tableau 5-6 : Constitution des groupes sur la base des corrélations obtenues par le test de Tuckey (Tableau 5-5). Deux points de prélèvements appartenant à un même groupe ne sont pas significativement différents.

Points de prélèvement	Groupes			
K1-55	A			
M-55	A	B		
K3-40	A	B	C	
M-10		B	C	D
K1-10		B	C	D
G3-50			C	D
G2-50			C	D
G2-15			C	D
G3-15			C	D
K3-15				D

Le passage des conditions oxydantes aux conditions réductrices s'observe par l'augmentation de la concentration en Fe II en solution (Figure 5-2). Ces conditions réductrices se mettent en place lorsque la vitesse de circulation de l'eau dans la porosité diminue du fait de la diminution des précipitations (Figure 5-1), conduisant à une diminution progressive de l'oxygénation du sol et par conséquent à la bioréduction des oxydes de fer par respiration anaérobie. La mise en place de ces conditions réductrice s'accompagne d'une augmentation de la concentration en COD (Figure 5-2). Au point K1 la corrélation observée entre les concentrations en COD et Fe II démontre le lien existant entre l'intensité de la bioréduction et celle de la concentration en COD. Les concentrations en COD les plus élevées étant observées lorsque les concentrations en Fe II sont les plus importantes (Figure 5-5). Cette relation est toutefois moins nette dans la zone humide du Mercy. Ces observations sont courantes dans les zones humides ripariennes (Gruau et al., 2004; Knorr, 2013; Olivie-Lauquet et al., 2001) et s'expliquent par la libération de MOD précédemment complexées avec les oxydes de fer qui ont été bioréduits (Grybos et al., 2009, 2007; Gu et al., 1995; Wagai et Mayer, 2007). Cette augmentation de la concentration en COD des solutions de sol s'accompagne d'une augmentation du $SUVA_{254}$ qui indique la libération de MOD aromatique (Lambert et al., 2013). Ce processus doit donc être pris en compte parmi les mécanismes de production de MOD à l'échelle annuelle.

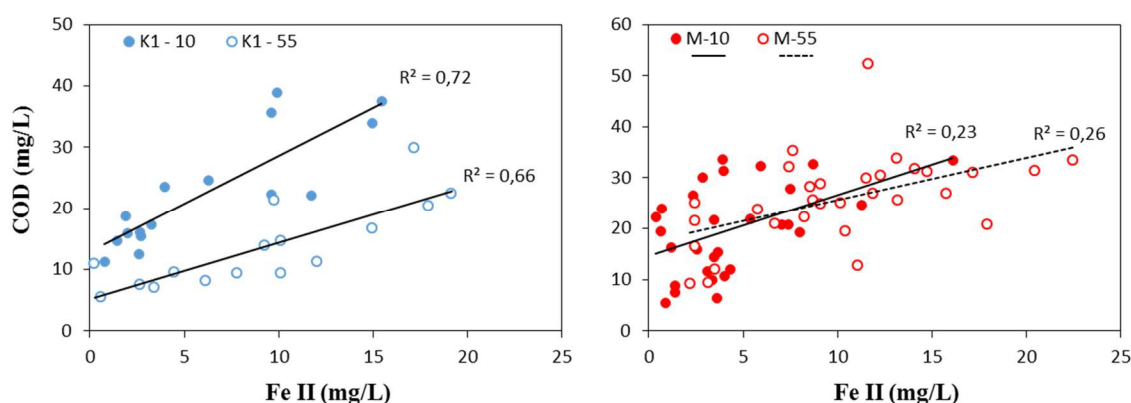


Figure 5-5 : Corrélations observées entre la concentration en COD et la concentration en Fe II pendant la phase de bioréduction à K1 et M pour les deux profondeurs d'échantillonnage.

Aux points d'échantillonnage G2 et G3, les conditions favorables à la mise en place de périodes de bioréduction dans la macroporosité intervenant de manière ponctuelle et sur des périodes de temps courtes comparé aux deux zones humides, les augmentations du $SUVA_{254}$ et de la concentration en COD ne sont pas clairement observables.

4.1.2 Hétérogénéité spatiale

La comparaison des deux transects, Kerrolland et Guériniec, permet de mettre en évidence des dynamiques différentes de production des MOD au cours des années hydrologiques.

À Kerrolland, à l'exception de la phase de réduction, les concentrations en COD les plus élevées à K1 et K3 sont observées en début d'année hydrologique et varient entre 15 et 20 mg/L. Sur le transect de Guériniec, tout au long des trois années hydrologiques, les solutions de sol présentent des concentrations variant de 15 à 45 mg/L (Figure 5-2). Pour expliquer cette différence, une hypothèse peut être émise quant à l'impact de l'écosystème dans lequel se trouve le point de prélèvement. En effet, la nature du sol, les communautés bactériennes, la végétation par le biais de la litière et des exsudats racinaires sont reconnus comme des paramètres impactant la quantité de MOD des solutions de sol (Kalbitz et al., 2000). Les conditions climatiques telles que les précipitations, ou la température qui sont également des paramètres de contrôle de la dynamique des MOD ne peuvent expliquer l'hétérogénéité observée ici, celles-ci étant homogènes du fait de la surface réduite du bassin versant. La concentration en carbone organique du sol a également été proposée comme facteur pouvant influencer la concentration en COD des solutions de sol (Chantigny, 2003). Les teneurs en carbone organique des sols de l'horizon organique étant de 81 mg/g à K1, 25 mg/g à K3, 72 mg/g à G2 et 42 mg/g à G3, la teneur en carbone organique du sol ne semble pas expliquer les différences de concentrations en COD des solutions de sol entre ces deux transects.

La concentration en COD dans l'horizon de surface et l'horizon profond aux points K1 et K3 a suivi la même évolution au cours de trois années (Figure 5-2). En revanche, pour les points G2 et G3, l'évolution de la concentration en DOC est différente pour chaque année dans les horizons de surface et profonds. Cette différence de fonctionnement de ces deux transects pourrait être liée à des conditions hydrologiques contrastées. En effet, les conditions hydrologiques ont un rôle prépondérant dans la dynamique des MOD (Covino, 2017). La

teneur en eau des sols conditionne la diffusion de la MOD de la micro vers la macroporosité (Worrall et al., 2008) et son transport depuis les sols jusqu'aux systèmes aquatiques. C'est également un facteur qui conditionne l'accessibilité et la probabilité de rencontre entre la MOD et les microorganismes du sol.

Les points K1 et K3 étant caractérisés par une période de saturation prolongée, ces conditions hydrologiques pourraient être à l'origine de la diminution progressive des concentrations en COD observées sur ces deux points dans l'horizon profond et dans l'horizon de surface. La relation observée à K3 et à K1 entre la durée de la saturation et la concentration en COD semble confirmer cette hypothèse (Figure 5-6). Du fait de la saturation prolongée, le continuum hydrologique persistant entre la micro et la macroporosité a pu favoriser l'épuisement du réservoir de MOD situé dans la microporosité, par diffusion de la micro vers la macroporosité (Worrall et al., 2008). Ce réservoir ayant pu se constituer pendant la période estivale lorsque la microporosité est isolée. Ainsi, plus la durée de saturation est longue, plus l'épuisement du réservoir de la microporosité est important. Cette hypothèse permet également d'expliquer l'augmentation de la concentration observée en fin d'année hydrologique à K3 lorsque les sols ne sont plus saturés (Figure 5-2). Plus les périodes d'insaturation sont longues plus la concentration dans la microporosité peut augmenter, la solubilisation des MOD ayant toujours lieu. Lorsque des précipitations ont lieu la diffusion peut alors avoir lieu, induisant alors des

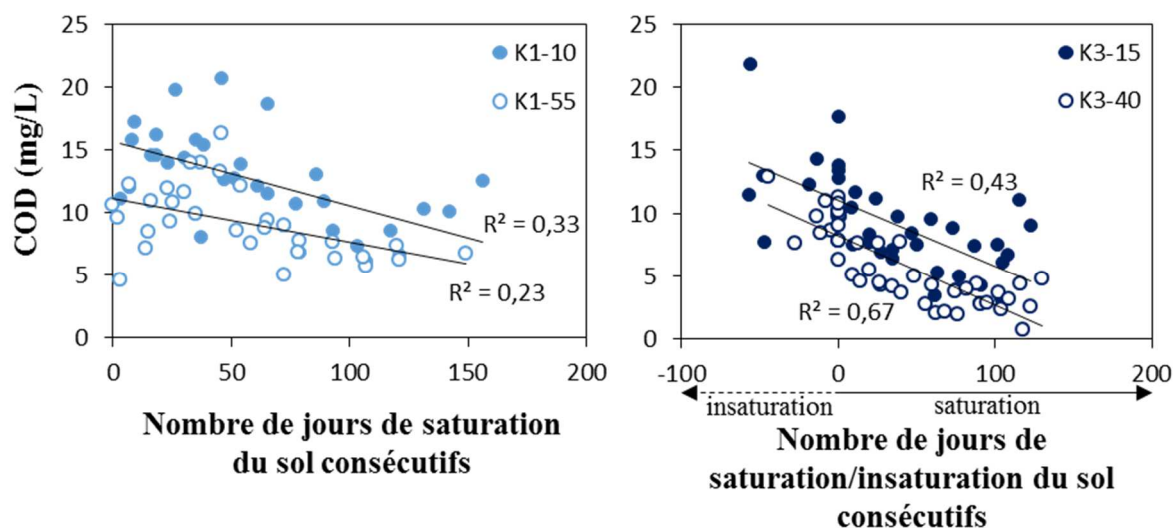


Figure 5-6 : Evolution de la concentration en COD en fonction du nombre de jours de saturation du sol consécutifs avant la date de prélèvement, pour les points K1 et K3 aux deux profondeurs d'échantillonnage. Pour le point d'échantillonnage K1, les points d'échantillonnage ayant lieu pendant la phase de bioréduction n'ont pas été pris en compte.

concentrations plus élevées en COD dans la solution de sol en circulation dans la microporosité.

Cette même hypothèse peut être envisagée pour expliquer les variations de concentration observées aux points G2 et G3. L'alternance de phases de saturation et de désaturation pouvant conduire à des phases d'augmentation et de diminution de la concentration en COD dans les solutions de sol. Aucune relation entre la concentration en COD et la durée de saturation ou d'insaturation n'a cependant été observée pour les trois ans de suivi. Ces variations semblent donc contrôlées par un ou plusieurs autres paramètres.

4.1.3 Evolution avec la profondeur

La littérature scientifique décrit classiquement une diminution de la concentration en COD avec la profondeur dans les solutions de sol. Cette diminution est interprétée comme le résultat de la complexation de MOD sur les phases minérales et les oxydes / hydroxydes métalliques au cours de leur transfert depuis les horizons de surface vers les horizons profonds (Kaiser et Kalbitz, 2012; Kalbitz et al., 2000). À l'exception de la zone humide du Mercy, cette évolution avec la profondeur est observée pour l'ensemble des points d'échantillonnages du bassin versant (Figure 5-2). On note toutefois une différence plus marquée pour les points G2 et G3. Alors que les points K1 et K3 sont soumis à une période de saturation prolongée favorisant une circulation horizontale plutôt que verticale, les points G2 et G3 ne sont pas soumis à une saturation prolongée favorisant ainsi la circulation verticale (Figure 5-1). Cette différence de conditions hydrologiques pourrait expliquer la différence de concentration plus marquée observée pour les points G2 et G3, la circulation verticale permettant la complexation des MOD et ainsi la diminution de la concentration en COD.

4.2 Distribution des phénols

Les phénols produits par la HMT-CPG-SM des MOD prélevées dans les horizons de surface proviennent des apports végétaux (exsudats racinaires, fragments végétaux, etc...) et de leurs produits de dégradation. La distribution des phénols produits par HMT-CPG-SM change en fonction du type de végétation et de la partie de la plante étudiée (Goñi et Hedges, 1992; Hedges et Mann, 1979). La nature des végétaux présents sur les sols conditionne ainsi cette

distribution lors de l'analyse de la MO qu'elle soit sous forme solide ou dissoute. Il est ainsi possible d'utiliser la distribution des phénols dans le but de distinguer des changements de végétation (Tareq et al., 2004).

4.2.1 Hétérogénéité spatiale

La différence significative observée dans la distribution des phénols entre le point K3-15 et les points G2-15, G3-15, K1-10 et M-10 (Tableaux 5-2 et 5-3) pourrait être attribuée aux cultures mises en place sur ce sol. La restitution de résidus de culture aux sols ainsi que les amendements ont ainsi pu contribuer à l'apport de lignines de composition différente en comparaison de la végétation en place sur les autres points de prélèvement. Cette différence observée pour les sols de culture a été précédemment mise en évidence pour la composition moléculaire de MOD déterminée par spectrométrie de masse très haute résolution avec la FT-ICR-MS (Seifert et al., 2016).

Avec les phénols identifiés dans le cadre de cette étude, il n'a pas été possible de faire la distinction entre les points d'échantillonnage situés dans la bande enherbée (G2-15 et G3-15) et ceux situés dans les zones humides où la végétation se compose de feuillus, d'arbustes et de plantes herbacées (K1-10 et M-10) (Tableaux 5-2 et 5-3). Il est toutefois possible de noter la proximité des points G2-15 et G3-15 sur le plan de l'ACP (Figure 5-3), qui peut être attribuée à la végétation identique présente sur ces deux points, ceux-ci se situant sur la même bande enherbée.

4.2.2 Evolution avec la profondeur

La différence de distribution des phénols avec la profondeur a été observée pour l'ensemble des points d'échantillonnage à l'exception du point K3 (Figure 5-3, Tableaux 5-2 et 5-3). Cette observation faite pour les phénols a été précédemment observée pour la composition moléculaire de la MOD déterminée par HMT-CPG-SM dans la zone humide du Mercy (Jeanneau et al., 2014) et par FT-ICR-MS sur des sols de prairies (Seifert et al., 2016). Dans les horizons profonds, cette distribution est caractérisée par une valeur plus élevée sur la composante 1 de l'ACP traduisant une influence relative plus marquée des molécules provenant des tannins (m/z 135, 152, 168, 167). Trois hypothèses peuvent être proposées pour expliquer

ces modifications observées avec la profondeur. La première hypothèse est la biodégradation de la MOD lors de son transport depuis les horizons de surface vers les horizons profonds, les bactéries et champignons présents dans les sols pouvant biodégrader les lignines et tannins (Kirk et Farrell, 1987). La deuxième hypothèse est la sorption préférentielle de certaines molécules sur les phases minérales et les oxydes et hydroxydes métalliques pendant leur transfert vertical. Enfin, la troisième hypothèse se base sur la différence de composition de la MOS le long du profil de sol. Aux différentes profondeurs, la MOD produite à partir de la MOS pourrait donc être de composition différente.

Pour les points d'échantillonnage G2 et G3, les tests statistiques ont révélé une différence de distribution des phénols avec la profondeur (Tableaux 5-2 et 5-3). De plus, les conditions hydrologiques sur ces points permettent d'avoir la majorité du temps des sols non saturés permettant la mise en place d'une circulation verticale. Par conséquent, les trois hypothèses peuvent être envisagées. Le ratio $Ad/Al_{(v)}$ est communément utilisé dans le but d'évaluer l'évolution de la biodégradation des lignines, ce rapport augmentant au cours de la biodégradation (Bianchi et al., 1999). Les valeurs du ratio $Ad/Al_{(v)}$ des MOD prélevées aux deux profondeurs à G2 et G3 (Figure 5-7) ont été comparées par le test de Dunn ($\alpha = 95\%$). La p -value de 0,069 obtenue entre G2-15 et G2-50 et la p -value de 0,089 obtenue entre G3-15 et G3-50 montre qu'il n'existe pas de différence significative sur ces deux points de prélèvements. Ces résultats ne vont pas dans le sens d'une biodégradation progressive des lignines et tannins avec la profondeur. Par conséquent, l'hypothèse 1 ne peut être retenue.

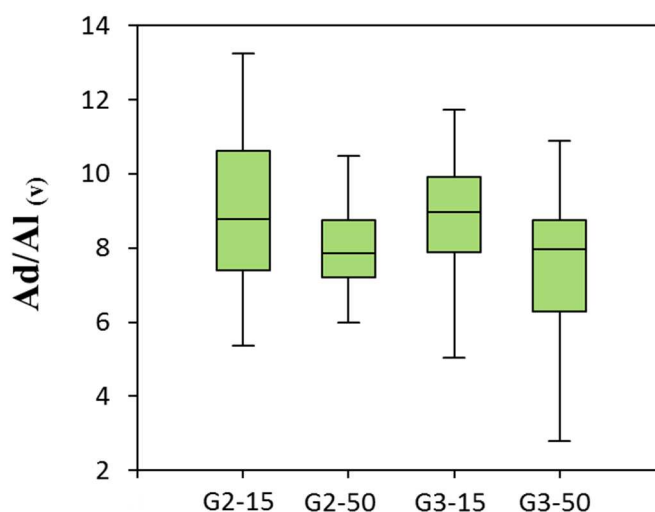


Figure 5-7 : Représentation en box plot des valeurs du ratio $Ad/Al_{(v)}$ mesurées sur les MOD des solutions de sol prélevées à G2 et G3 dans l'horizon de surface (15 cm) et l'horizon profond (50 cm).

Pour les points d'échantillonnage K1 et M, les tests statistiques ont révélé une différence de distribution des phénols avec la profondeur (Tableaux 5-2 et 5-3). Cependant, les conditions hydrologiques sur ces deux points de prélèvement induisent des conditions de saturation pérennes pendant une grande partie de l'année. Pour K1 et M, 91% des échantillons ont été prélevés alors que l'horizon profond et l'horizon de surface étaient saturés. Par conséquent, les hypothèses 1 et 2 ne peuvent pas expliquer la différence de distribution des phénols entre ces deux profondeurs. La différence observée sur ces points serait donc expliquée par l'hypothèse 3.

Pour le point d'échantillonnage K3, les tests statistiques n'ont pas révélé de différences significatives de distribution des phénols entre les deux profondeurs d'échantillonnage (Tableaux 5-2 et 5-3) bien qu'une circulation verticale se mette en place une grande partie de l'année. Cette absence de différence avec la profondeur a été précédemment observée par (Seifert et al., 2016), et pourrait être attribuée aux pratiques culturales mises en place sur ces sols. En effet, les pratiques culturales, principalement le labour, contribuent à l'homogénéisation des 30 premiers centimètres du sol et pourraient ainsi réduire la différence de composition des MOS avec la profondeur et par conséquent celle de la MOD dans le cas de l'hypothèse 3.

4.3 Distribution des acides gras phospholipidiques

4.3.1 Hétérogénéité spatiale

Bien que les différents points de prélèvement du bassin versant présentent des écosystèmes différents, la distribution des acides gras phospholipidiques présents dans la solution de sol des horizons de surface ne présente pas de différences significatives (Tableaux 5-5 et 5-6).

Parmi l'ensemble des facteurs pouvant influencer les communautés microbiennes et donc la distribution des acides gras phospholipidiques, la différence de saturation des sols et donc de disponibilité en oxygène ainsi que la différence de végétation sont deux paramètres permettant de différencier les points de prélèvement du bassin versant (Bossio et Scow, 1998; Xue et al., 2008). Ainsi, une différence de la distribution des acides gras phospholipidiques pouvait être

attendue pour les sols K1 et M présentant une saturation importante pendant une grande partie de l'année hydrologique. Ou encore entre les points de bande enherbée (G2 et G3), de zones humides (K1 et M) et de sols agricoles (K3). Cependant, aucune différence significative n'a été identifiée. La température, autre facteur important dans l'activité des communautés microbiennes (Zogg et al., 1997) pouvant être considérée comme identique sur l'ensemble du bassin versant au vu de sa taille réduite peut être identifiée comme un facteur limitant l'hétérogénéité spatiale de la distribution des acides gras phospholipidiques. Les changements de conditions environnementales tout au long de l'année hydrologique (température, saturation en eau, disponibilité en oxygène, etc...) peuvent être à l'origine de la variabilité observée pour chaque point du bassin versant via les écarts-types autour du point moyen sur l'ACP, et qui contribuent à l'absence de différences significatives.

4.3.2 Evolution avec la profondeur

La modification quantitative et qualitative de la MOD observée avec la profondeur dans de nombreuses études sont des facteurs pouvant impacter les communautés microbiennes, et notamment leur diversité, modifiant ainsi la distribution des acides gras phospholipidiques (Fierer et al., 2003; Griffiths et al., 1999). La période de saturation en eau des sols est également plus longue dans les horizons profonds des sols. Ce paramètre ayant été identifié comme impactant les communautés microbiennes (Bossio et Scow, 1998), il pourrait également induire une modification de la distribution des acides gras phospholipidiques. Ainsi ces deux paramètres pourraient induire une différenciation entre les points prélevés dans les horizons de surface et les horizons profonds pour les différents points du bassin versant.

Les analyses statistiques réalisées sur l'ensemble des données n'ont cependant pas permis de faire la distinction entre les deux profondeurs pour la majorité des points. Seuls les points K1 et K3 présentent une différence significative. Cette absence de différence entre les deux profondeurs pourrait être liée à la variabilité importante observée au cours des trois années hydrologiques (Figure 5-4) qui viendrait masquer la variation entre les deux profondeurs d'échantillonnage.

5. Conclusion

Les données quantitatives obtenues par la concentration en COD des solutions de sol échantillonnées sur les différents points de mesure du bassin versant ont permis de mettre en avant le rôle majeur des conditions hydrologiques dans la dynamique de solubilisation et d'export des MOD. Ces conditions hydrologiques ont été identifiées comme étant responsables de la mise en place de phases de bioréduction, principalement dans les zones humides. Celles-ci ayant pour conséquence la solubilisation d'un réservoir de MOD supplémentaire, à savoir les MOD initialement complexées aux oxydes de fer. En dehors de ces phases de réduction, l'évolution de la concentration semble contrôlée par la durée des phases de saturation et d'insaturation, pour les points situés sur le transect de Kerrolland. En revanche ces paramètres n'ont pu être reliés à l'évolution observée sur le transect de Guériniac. Pour ce transect d'autres paramètres semblent donc contrôler la dynamique de solubilisation et d'export des MOD.

D'un point de vue qualitatif, l'analyse par HMT-CPG-SM a permis d'observer la diversité de composition des MOD à l'échelle du bassin versant et le long de profils de sols à travers la distribution des phénols et des acides gras phospholipidiques. Le traitement ACP a permis de mettre en évidence les différences de distribution des phénols sur le bassin versant. Cette distribution a ainsi essentiellement permis de différencier les sols agricoles des sols de prairies et de zones humides ripariennes. L'évolution verticale semble elle contrôlée par les conditions hydrologiques et l'impact anthropique via les pratiques culturales. Le traitement ACP réalisé sur la distribution des acides gras phospholipidiques n'a pas permis de mettre en évidence une modification spatiale sur les différents points du bassin versant ou le long des profils de sols. La variabilité importante observée au cours des trois ans de suivi a cependant pu contribuer à masquer ces différences.

PARTIE 2 :

Identification d'un transfert de versant en lien avec la dynamique de nappe sur le transect de Kerrolland.

1. Introduction

La détermination des sources de MOD exportées par les rivières est une problématique étudiée depuis de nombreuses années. Alors que les zones humides sont considérées comme des zones contributrices majeures possédant un réservoir de MOD illimité (Fiebig et al., 1990; Mei et al., 2012), les hauts de versants ont été identifiés comme de potentielles zones contributrices secondaires où peuvent s'accumuler un stock de MOD de taille limitée (Sanderman et al., 2009). Du fait de la topographie, la connectivité hydrologique a été identifiée comme étant un facteur de contrôle de l'export des MOD de ces zones contributrices (Bishop et al., 2004; Hood et al., 2006; McGlynn et McDonnell, 2003). La dynamique de nappe, par la création d'un continuum hydrologique haut de versant / zones ripariennes / rivières semble donc avoir un rôle prédominant dans la dynamique et l'export vers la rivière des MOD accumulées dans les hauts de versant (Covino, 2017).

L'ensemble des études menées sur cette problématique ont permis de faire émerger un modèle conceptuel de fonctionnement du transfert des MOD à l'échelle d'un versant. Pendant la période estivale et jusqu'à la reprise des précipitations, la nappe se trouve dans les horizons profonds dans les hauts de versants. Il n'existe donc pas de connectivité hydrologique entre le haut de versant, la zone riparienne et la rivière (Figure 5-8 A). Cette situation permettrait la constitution progressive d'un réservoir de MOD localisé dans le versant.

Lors de l'intensification des précipitations au cours de la période hivernale, la nappe monte dans le versant créant ainsi un continuum hydrologique entre le haut de versant, la zone riparienne et la rivière (Figure 5-8 B). Cette connexion permettrait alors à la MOD de haut de versant d'être exportée vers les zones ripariennes et *in fine* vers la rivière. Le réservoir de MOD de versant aurait une taille limitée (Pacific et al., 2010; Sanderman et al., 2009), son transfert ne serait possible que jusqu'à épuisement de celui-ci, ce qui expliquerait les baisses de la concentration en COD exporté par les bassins versants de tête au cours des années hydrologiques.

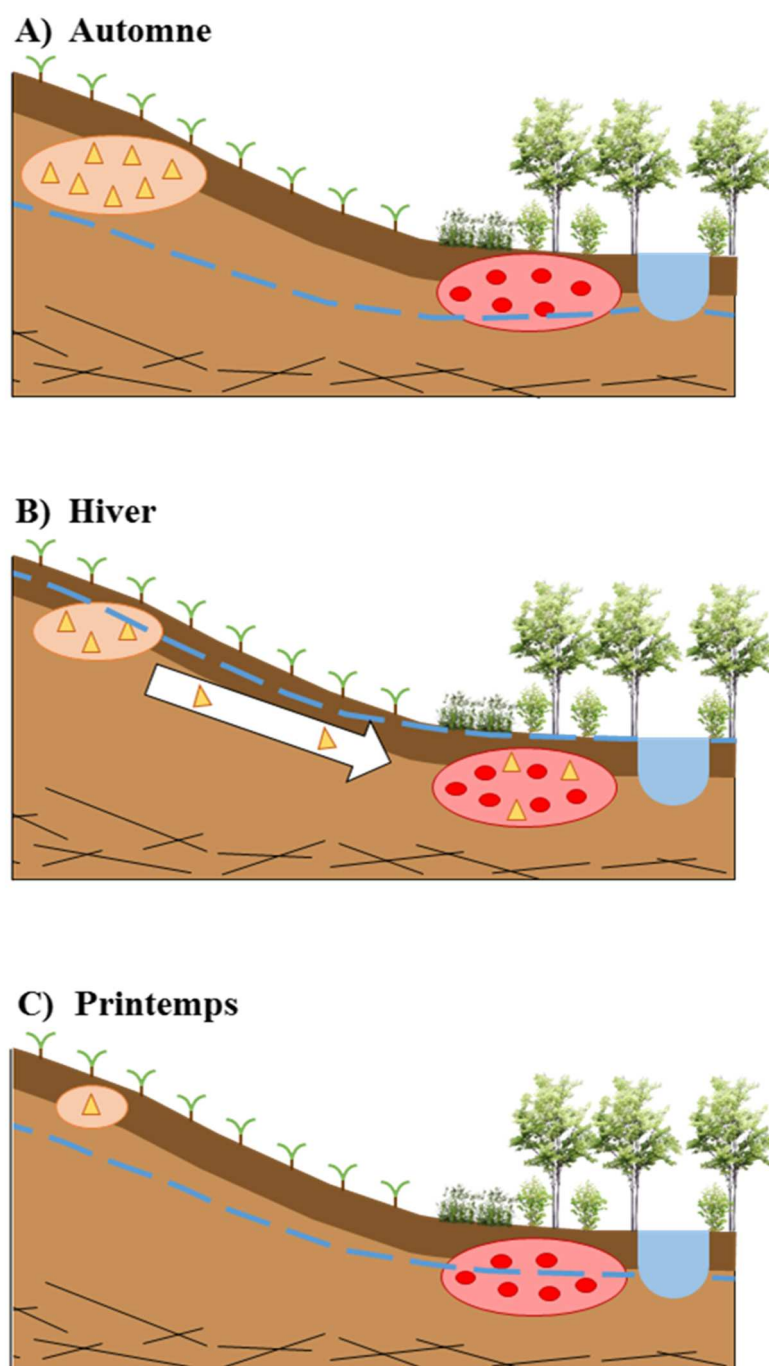


Figure 5-8 : Représentation schématique de l'hypothèse de transfert de versant.

La redescende de la nappe vers les horizons de sol inférieurs en période estivale rompt cette connexion hydrologique de manière prolongée, permettant ainsi la reconstitution de ce réservoir pour l'année hydrologique suivante (Figure 5-8 C).

Le site de Kervidy-Naizin est un lieu idéal pour étudier cette question car de nombreuses études ont porté sur la biogéochimie des MOD dans ce bassin versant et notamment dans le but de comprendre les dynamiques de concentrations en COD exporté hors du bassin versant. Les zones humides ripariennes présentes sur le bassin versant ont été identifiées comme étant les zones contributrices majeures de MOD exportées par la rivière. Le réservoir de MOD disponible dans ces zones étant considéré comme illimité (Lambert et al., 2014; Morel et al., 2009). Les fluctuations de rapport isotopique de carbone ($\delta^{13}\text{C}$) observées à l'exutoire pendant les crues (Figure 5-9) et dans la zone humide du Mercy via un échantillonnage tous les 15 jours lors de l'année hydrologique 2010/2011 (Figure 1-6b) (Lambert et al., 2011, 2014). Ces fluctuations ont été interprétées comme dues à un transfert de la MOD de versant via la connexion hydrologique créée par la montée de la nappe dans les horizons organiques. La dynamique de ces fluctuations a, quant à elle, été interprétée comme un épuisement progressif de ce réservoir de versant au cours de la période hivernale.

Dans le cadre de cette étude, ces deux hypothèses ont été testées via le suivi pluriannuel sur 3 ans de la composition isotopique et moléculaire des MOD présentes dans les solutions de sol prélevées en haut de versant et dans la zone riparienne le long du transect de Kerrolland.

2. Matériel et méthode

2.1 Echantillonnage

L'ensemble des données utilisées dans cette partie proviennent de l'échantillonnage annuel effectué sur le bassin versant de Kervidy-Naizin entre Octobre 2013 et Juin 2016, couvrant ainsi les trois années hydrologiques consécutives. La base de données utilisée regroupe les échantillons de solutions de sol prélevées sur le transect de Kerrolland dans les horizons de surface. Une description plus détaillée de ces points d'échantillonnages est disponibles dans le Chapitre 2, section 1.3. L'ensemble des échantillons ont suivi le traitement analytique décrit dans le Chapitre 2, section 2. Les données isotopiques acquises couvrent les deux premières années hydrologiques, mais ne sont pas disponibles pour la troisième année.

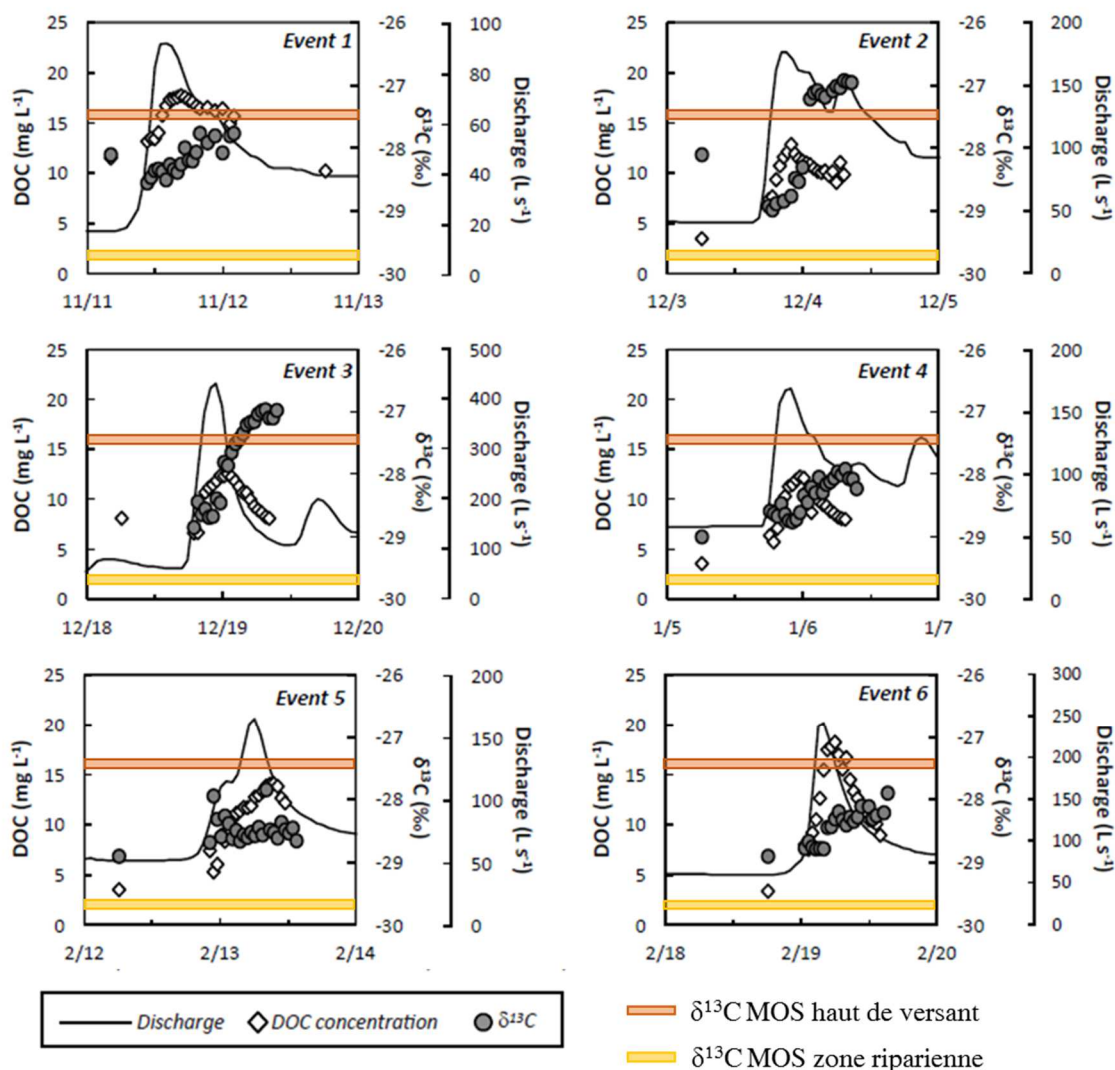


Figure 5-9 : Evolution du débit, de la concentration en COD et du $\delta^{13}\text{C}$ à l'exutoire du bassin versant de Kervidy-Naizin pendant 6 crues ayant eu lieu au cours de l'année hydrologique 2010/2011. D'après Lambert et al. (2014)

2.2 Traitement statistique

Une ACP a été réalisée à partir de la distribution de phénols au cours des trois années hydrologiques, ceux-ci ayant été identifiés précédemment comme permettant de faire la distinction entre les points K1 et K3 du transect (c.f. Partie 1). Une description plus détaillée sur les paramètres de construction de l'ACP est disponible dans le Chapitre 2, section 2.

3. Résultats

3.1 Hydrologie

Le découpage hydrologique effectué se base sur les observations faites précédemment sur le bassin versant de Kervidy-Naizin (Figure 5-10) (Humbert et al., 2015; Molenat et al., 2008). La période A est caractérisée par la réhumectation progressive des sols en lien avec l'intensification des précipitations. La transition entre période A et période B1 est identifiée par la rapide montée de la nappe dans le versant qui atteint l'horizon organique. La période B1 est caractérisée par une saturation prolongée des sols de la zone humide riparienne et un battement de la nappe autour de l'horizon de surface des sols de haut de versant. La période B2 correspond à la mise en place de conditions réductrices identifiées par la présence de fer II en solution. Cette période hydrologique se met en place uniquement dans les zones humides ripariennes. La période C correspond à la phase hydrologique où la nappe descend progressivement vers les horizons profonds.

Pendant les trois années de suivi, la montée de la nappe dans le versant à la transition entre les périodes A et B1 marque le début de la période de saturation de l'horizon organique aux points K1 et K3. En K1, l'horizon organique reste saturé tout au long de la période B1 pour les trois années. En K3, l'horizon organique est resté saturé lors de la période B1 de la première année en lien avec les précipitations importantes. Les deux années suivantes, la nappe a fluctué dans cet horizon pendant la période B1 (Figure 5-11). Au point K4, les précipitations exceptionnellement élevées pendant la période hivernale de l'année hydrologique 2013/2014 (précipitations annuelles de 1306 mm contre 776 et 772 mm les deux années suivantes) ont permis une saturation intermittente de l'horizon organique, créant une connectivité hydrologique des horizons organiques le long du versant depuis K1 jusqu'à K4. Les deux années suivantes, les précipitations plus modérées n'ont pas permis à la nappe d'atteindre l'horizon organique à K4, limitant la connexion hydrologique à la zone K1-K3.

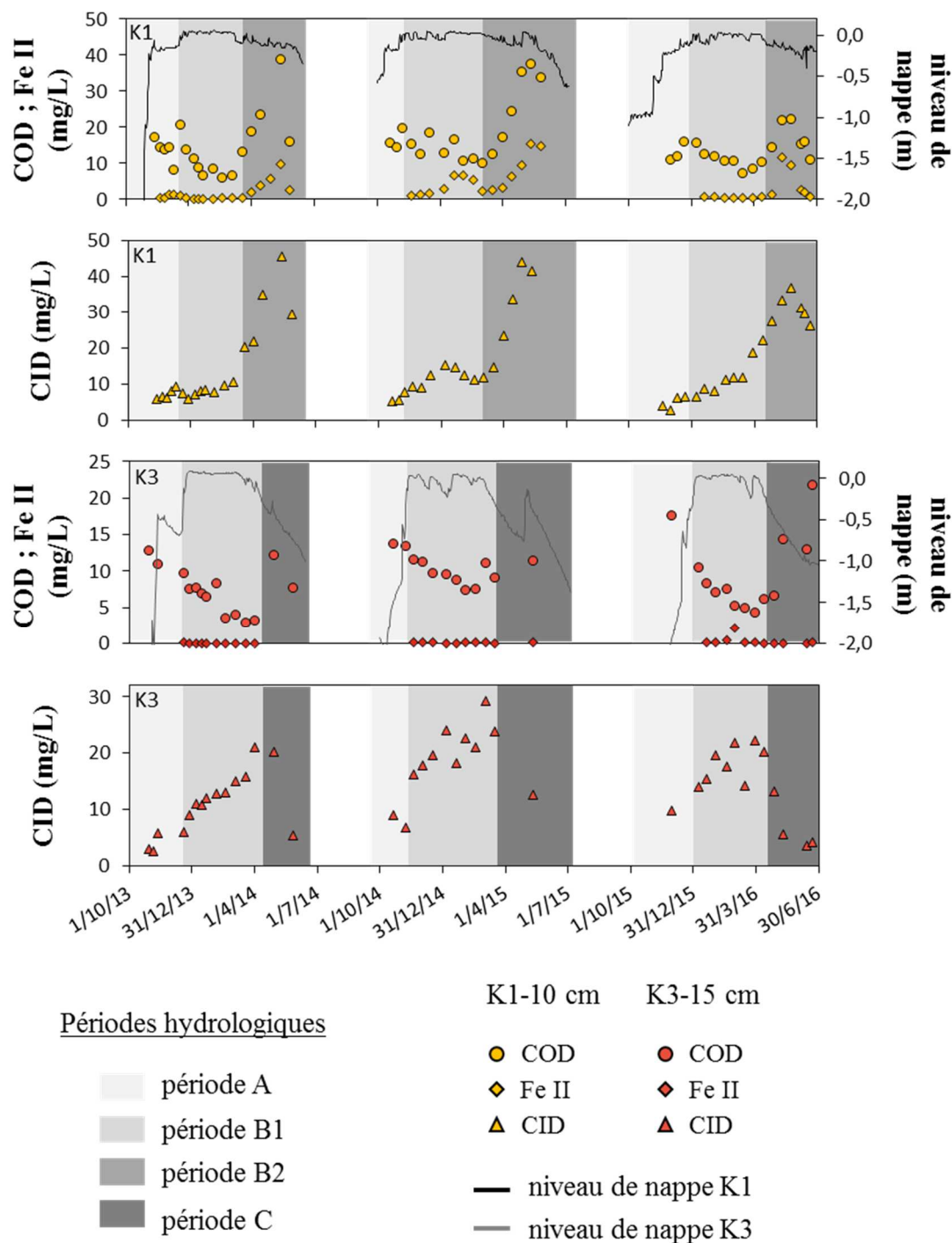


Figure 5-10 : Evolution de la concentration en COD, CID et Fe II dans les solutions de sol à K1-10 cm et K3-15 cm pendant les trois années de suivi. Evolution de la dynamique de nappe à K1 et K3.

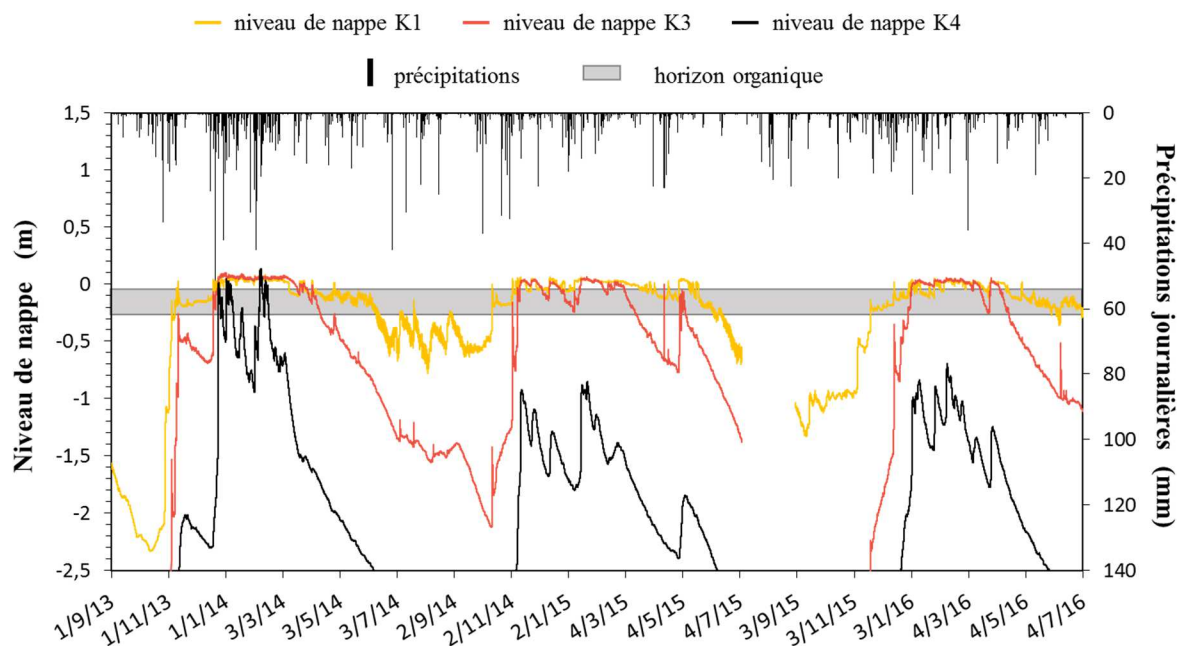


Figure 5-11 : Précipitations journalières et évolution du niveau de nappe aux points K1, K3 et K4. La localisation des différents points sur le transect est disponible sur la Figure 2-5.

3.2 Concentration en COD

L'évolution annuelle de la concentration en COD dans l'horizon de surface à K3 est comparable pour les trois années de suivi (Figure 5-10). Les concentrations les plus élevées sont enregistrées en début de période A avec 12,8 mg/L, 13,8 mg/L et 17,6 mg/L respectivement pour les trois années successives. Les concentrations diminuent progressivement au cours des périodes A et B1 pour atteindre 3,2 ; 7,5 et 6,1 mg/L respectivement pour les trois années successives. Une augmentation de la concentration est alors observée en période C. Les solutions de sol atteignent respectivement 12,2 ; 11,5 et 21,8 mg/L en fin de période C pour les trois années hydrologiques successives.

A k1, la concentration en COD montre une évolution différente (Figure 5-10). En période A, on observe une relative stabilité de la concentration avec en moyenne 14,8 mg/L et 10,8 mg/L sur les deux premières années respectivement. Pour la troisième année, la concentration augmente de 11,1 mg/L à 16,2 mg/L. Pour les trois années de suivi, la concentration diminue progressivement pendant la période B1. La diminution la plus importante est observée la première année avec 13,8 mg/L mesurée en début et 6,6 mg/L en fin

de période B1. Les deux années suivantes présentent des diminutions plus faibles avec un passage de 15,4 à 10,1 mg/L la deuxième année et 15,8 à 10,3 mg/L la troisième année. La période B2 et la mise en place de conditions réductrices dans les sols est responsable d'une augmentation progressive de la concentration en COD des solutions de sol en lien avec la bioréduction des oxydes de fer et la libération des MO en interaction avec les surfaces minérales (Grybos et al., 2009; Lambert et al., 2013) (c.f. Partie 1 section 4.1.1) et a lieu pendant les trois années de suivi.

3.3 Concentration en CID

Dans la zone humide riparienne à K1-10 cm, les concentrations en carbone inorganique dissout (CID) varient peu au cours des périodes A et B1. Elles sont en moyenne de 8,0 ; 10,6 et 8,9 mg/L respectivement pour les trois années hydrologiques successives (Figure 5-10). Le passage à la période hydrologique B2 est marqué par une forte augmentation de la concentration avec des maximas de 45,6 ; 50,6 et 37,1 mg/L atteints au cours des trois années hydrologiques successives. La fin de la période B2 est marquée par le début de la diminution de la concentration en CID pour les années 2013/2014 et 2015/2016. Pour l'année 2014/2015, l'échantillonnage n'a pas permis d'observer cette diminution.

Dans le haut de versant à K3-15 cm, les concentrations en CID augmentent progressivement pendant les périodes hydrologiques A et B1. L'année 2013/2014, le premier échantillon prélevé en période A présente la concentration la plus faible avec 3,0 mg/L (Figure 5-10). Les premiers échantillons de la période A des deux années suivantes présentent des concentrations plus élevées avec 9,0 et 9,7 mg/L respectivement pour les années 2014/2015 et 2015/2016.

La transition vers la période C est caractérisée par la diminution rapide de la concentration en CID pour les trois années de suivi. On observe ainsi une diminution de 20,9 à 5,3 mg/L pour l'année 2013/2014, 29,3 à 12,6 mg/L pour l'année 2014/2015 et 22,2 à 3,5 mg/L pour l'année 2015/2016.

3.4 Concentration en Fe II

Dans la zone humide riparienne à K1-10 cm, les concentrations en Fe II sont inférieures à 1,5 mg/L pendant les périodes A et B1 des trois années de suivi, à l'exception d'une faible augmentation en période B1 de l'année 2014/2015 où les concentrations ont atteint 6,6 mg/L (Figure 5-10). L'augmentation en fin d'année hydrologique de la concentration en Fe II marque le passage à la période B2 et l'établissement de conditions réductrices pérennes. L'intensité de l'augmentation des concentrations est variable sur les trois années avec un maximum de 9,9 ; 15,5 et 11,8 mg/L respectivement pour les trois années successives. La deuxième année les dernières solutions de sol échantillonnées mettent en évidence une stagnation de la concentration en Fe II. Les deux autres années de suivi montrent quant à elles la diminution rapide de la concentration en fin de période B2, et dans le cas de l'année 2015/2016 le retour vers des concentrations inférieures à 1,5 mg/L.

Dans le versant à K3-15 cm, les concentrations en Fe II restent inférieures à 0.5 mg/L tout au long des trois années hydrologiques, ce qui explique l'absence de période B2 (Figure 5-10). Seul un point d'échantillonnage le 01/03/16 est caractérisé par une concentration sensiblement plus élevée de 2,2 mg/L.

3.5 Signature isotopique

Les analyses isotopiques ont été réalisées sur les échantillons provenant des deux premières années de suivi. En moyenne au cours de ces deux années, les MOD des solutions de sol échantillonnées à K3-15 cm sont caractérisées par une valeur de $\delta^{13}\text{C}$ de -25,4‰ et -27,3‰ pour K1-10 cm (Figure 5-12A). La distribution des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ à K1-10 et K3-15 suivant une loi normale, un test de student a été réalisé afin de déterminer si la signature isotopique du carbone de ces deux points de prélèvements était significativement différente. La p-value <0.001 pour $\alpha = 0,95$ indique que la signature isotopique de ces deux points de prélèvement est significativement différente.

Le $\delta^{13}\text{C}$ évolue de manière différente lors des deux années hydrologiques étudiées (Figure 5-12A). Au cours de l'année 2013/2014 les solutions de sol de K1 et K3 sont caractérisées par des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ différentes en période A avec en moyenne -25,7 ‰ à K3 et -28,6 ‰ à K1. A la transition entre la période A et la période B1 le $\delta^{13}\text{C}$ des solutions de sol

en K1 augmente rapidement pour atteindre -26,2 ‰ et se rapprocher de la signature isotopique observée pour les solutions de sol de K3 (-25,5 ‰). Pendant le reste de la période B1, les signatures des solutions de sols varient peu et sont en moyenne de -27,9‰ à K1 et -26,7‰ à K3. L'année hydrologique 2014/2015 est caractérisée quant à elle par une évolution différente. En période A, la différence de $\delta^{13}\text{C}$ est moins marquée avec en moyenne -25,9 ‰ à K1 et -25,0 ‰ à K3. À partir de la transition A/B1 et jusqu'à la fin de l'année hydrologique, la différence de signature isotopique est conservée et tend à s'accroître avec -27,9‰ à K1 et -25,0‰ à K3 pour les derniers échantillons.

3.6 Distribution des phénols

L'évolution de la distribution des phénols a été regardée à travers l'évolution des coordonnées sur la composante 1 de l'ACP qui représente 25,5% de la variance. La distribution des phénols présente une évolution annuelle différente au cours des trois années de suivi (Figure 5-12B). Les données sur les trois années de suivi mettent en avant la différence de distribution des phénols en K3 et en K1. Cette différence est illustrée sur la Figure 5-12B par les bandes de couleur qui représentent les domaines moyenne $\pm$ écart type pour ces deux distributions.

Au début de la première année, les points de K3 et K1 sont dans leurs domaines respectifs. Cependant en fin de période A, la distribution des phénols en K3 change brutalement. Ce même changement brutal est observé à K1 au moment de la transition A/B1. A ce moment, les distributions des phénols observées à K1 et K3 sont similaires. Dès la deuxième date de prélèvement après la transition A/B1, la distribution des phénols en K3 redevient similaire à la distribution moyenne sur les trois ans. En K1, il faut attendre le troisième prélèvement après la transition pour revenir à la distribution moyenne.

La deuxième année, la distribution des phénols ne permet pas de différencier les deux points de prélèvement pendant la période A, notamment du fait de la forte variabilité des valeurs enregistrées en K1 et en K3. Contrairement à la première année, la transition A/B1 n'est pas marquée par une modification brutale des distributions des phénols le long du transect. Les solutions de sol à K1 sont caractérisées par de faibles variations de coordonnées sur la composante 1 de l'ACP tout au long de l'année hydrologique, excepté pour deux dates de prélèvements en période B1 (le 16/12/2014 et le 20/01/2015) pour lesquelles on observe un

changement de composition comparable à celui observé à la transition A/B1 la première année. A partir du début de la période B1, les solutions de sol à K3 présentent une modification progressive de la distribution des phénols avec une variation de coordonnées sur la composante 1 de l'ACP vers des valeurs plus élevées.

L'évolution de la distribution des phénols lors de la troisième année est assez proche de celle observée l'année 2 avec des variations négatives en K1 quasi inexistantes et une augmentation moins importante en K3 (3,7 l'année 3 contre 6,3 l'année 2).

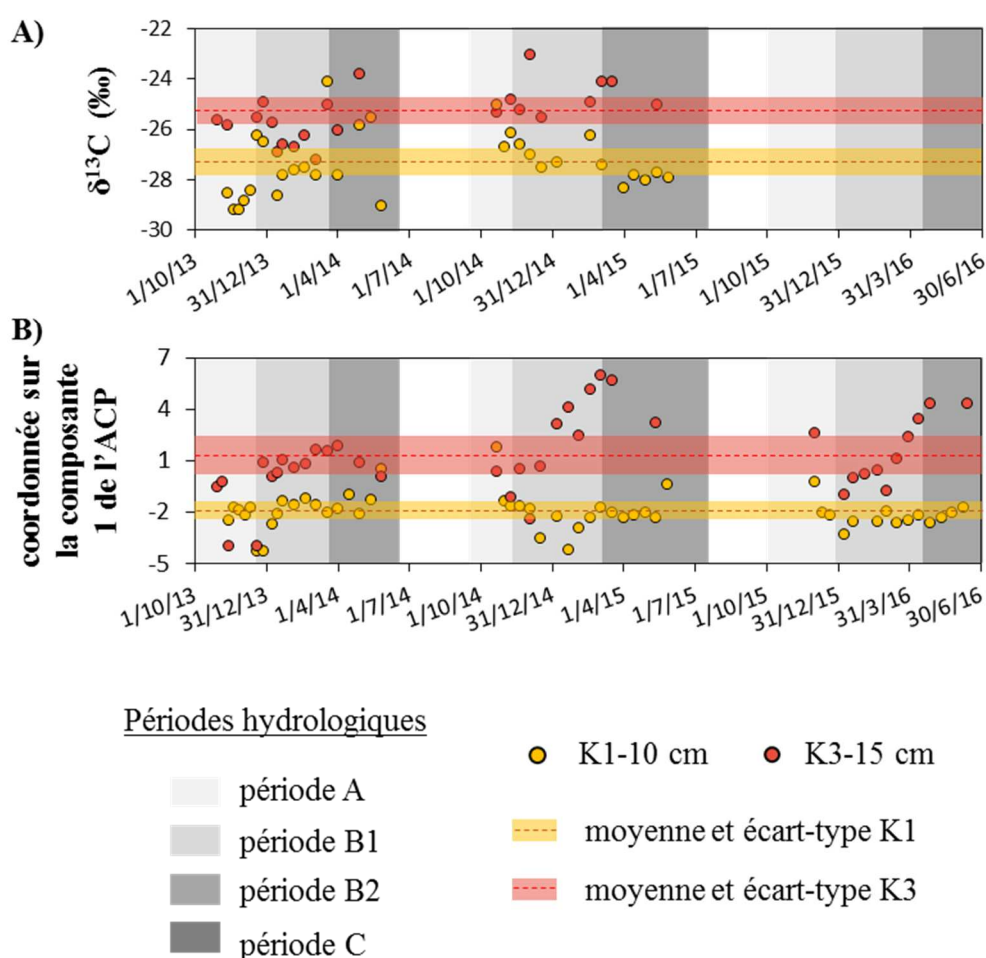


Figure 5-12 : Evolution annuelle de la signature isotopique du carbone $\delta^{13}\text{C}$ (A) et de la distribution des phénols (B) dans la zone de haut de versant (K3) et dans la zone humide riparienne (K1) du transect de Kerrolland.

4. Discussion

4.1 Transfert du versant vers la zone humide riparienne

Suite aux travaux de Lambert et al. (2014, 2013), le rapport isotopique du carbone $\delta^{13}\text{C}$ a été identifié comme permettant de différencier les MOD extraites à partir des sols du versant agricole des MOD des solutions de sol prélevées dans la macroporosité de la zone humide du Mercy. Cette différence significative de signature isotopique se retrouve le long du transect de Kerrolland avec une valeur moyenne du rapport isotopique sur les deux années hydrologiques pour lesquelles les données sont disponibles de $-27,3 \pm 0,6\text{‰}$ et $-25,4 \pm 0,6\text{‰}$ en K1 et K3 respectivement (Figure 5-12A). Cette différence de signature isotopique est sensiblement plus faible que celle estimée à partir des MOD extraites par agitation par Lambert et al. (2014), à savoir $-28,6 \pm 0,1\text{‰}$ et $-24,9 \pm 0,7\text{‰}$ pour K1 et K3 respectivement. Comme il a été démontré précédemment (c.f. Chapitre 5 - Partie 1), la distribution des phénols provenant de la HMT-CPG-SM des lignines et tannins permet également de différencier les MOD des solutions de sol de K1 et de K3 (Figure 5-12B). Ces deux paramètres peuvent donc être utilisés ici comme traceurs d'un transfert de versant.

Les concentrations en COD les plus élevées mesurées en début de période A à K3 (Figure 5-10) pourraient être interprétées comme l'accumulation de MOD au cours de la période estivale. La diminution progressive de ces concentrations tout au long de la période B1 pourrait correspondre à l'export progressif de ce réservoir de versant identifié à plusieurs reprises comme ayant une taille limitée (Pacific et al., 2010; Sanderman et al., 2009). Cet export peut se faire vers les horizons profonds si les conditions hydrologiques sont favorables à une circulation verticale, les MOD pouvant alors être progressivement adsorbées sur les phases minérales (Kaiser et Kalbitz, 2012). L'export de ce réservoir peut également se faire vers la zone humide riparienne via une circulation horizontale en lien avec la mise en place d'une connectivité hydrologique le long du versant.

Au cours de la première année de suivi, en période A, la différence de signature isotopique est la plus marquée entre les deux zones du bassin versant. Puis à la transition A/B1, les valeurs intermédiaires observées à K1 pourraient être interprétée comme l'arrivée de MOD de versant du fait de l'établissement d'une connexion hydrologique entre ces deux zones (Figure 5-12A). La deuxième année, à la transition A/B1 en K1, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ sont

également intermédiaires, pouvant là encore être interprétées comme un mélange des deux réservoirs. En K1, le retour vers la signature isotopique observée en période hors crue se fait avec une dynamique différente. Les valeurs caractéristiques sont à nouveau observées en K1 après 26 jours la première année contre 40 jours la deuxième année. Cette différence pouvant être interprétée comme un épuisement plus rapide du réservoir de versant la première année en lien avec les très fortes précipitations qui ont eu lieu au moment de la transition A/B1.

La deuxième année, la différence isotopique entre les deux zones du versant est moins prononcée en période A, avec des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus élevées pour la MOD échantillonnée à K1 (Figure 5-12A). Ces valeurs plus élevées pourraient être causées par les conditions de réhumectation du sol. Lors d'expérimentation de lessivage de colonnes de sols provenant de la zone humide du Mercy, la MOD contenue dans les premiers échantillons qui correspondent à la phase de réhumectation du sol sont caractérisés par une signature isotopique plus élevée pouvant aller jusqu'à +1,5‰ comparé à la signature isotopique mesurée sur la MOD extraite une fois la phase de réhumectation passée (Figure 5-13). Une hypothèse permettant expliquer les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus élevées en début de période A la deuxième année comparativement à la première année est l'intensité des précipitations qui ont eu lieu au cours de cette période hydrologique (Figure 5-11). Les précipitations importantes qui ont eu lieu pendant plusieurs

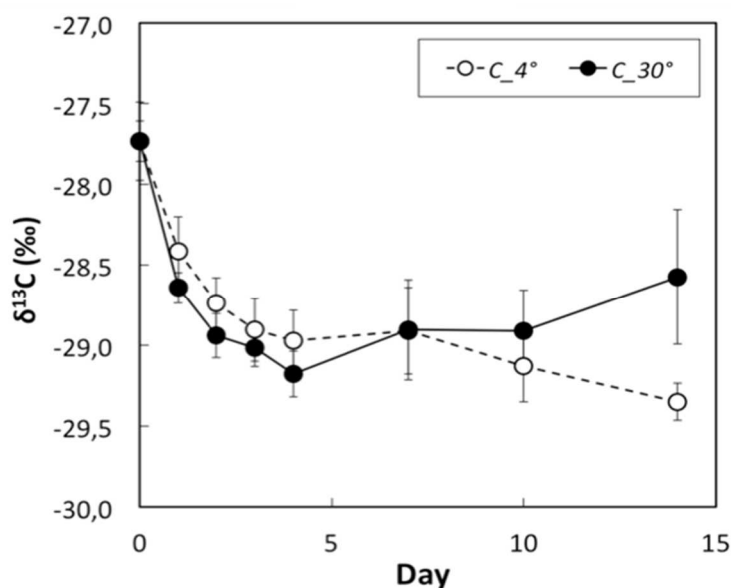


Figure 5-13: Evolution de la signature isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) des MOD obtenues par lessivage de colonnes de sol prélevées dans la zone humide du Mercy, pour deux températures différentes. Ces données obtenues par Thibault Lambert ne sont pas publiées.

jours la première année ont pu conduire à l'export très rapide du stock de MOD empêchant ainsi l'échantillonnage de cette MOD de signature isotopique particulière. Au contraire, la deuxième année, la reprise des précipitations se faisant avec une intensité plus faible, l'export de cette MOD a pu se faire plus lentement, rendant possible son échantillonnage.

Cependant, plusieurs observations effectuées sur les trois années de suivi viennent modérer l'hypothèse d'un transfert de versant.

Dans cette hypothèse, à la transition A/B1, la solution de sol prélevée dans la zone humide riparienne résulterait du mélange entre le réservoir de versant et le réservoir de la zone humide riparienne. En moyenne pendant la période A, les solutions de sol ont une concentration en COD de 11,9 mg/L et 13,6 mg/L pour les années 1 et 2 respectivement à K3 et 13,7 mg/L et 15,2 mg/L pour les années 1 et 2 respectivement à K1 (Figure 5-10). Au moment de la transition A/B1, les concentrations observées en K1 devraient donc présenter des valeurs intermédiaires. Or les concentrations en COD augmentent en K1 ces deux années. Seule la troisième année présente une concentration plus élevée à K3 qu'à K1 avec respectivement 17,6 mg/L et 13,8 mg/L. L'augmentation observée à K1 à la transition A/B1 est alors cohérente avec un transfert de versant uniquement pour cette troisième année. Ce paradoxe pour les deux premières années pourrait toutefois être expliqué par une hétérogénéité probable de l'ensemble de la zone de versant. Des concentrations plus élevées qu'au point K3 pouvant potentiellement être présentes sur le versant.

L'évolution de la distribution des phénols la première année montre la constitution d'un réservoir de versant avec une signature moléculaire spécifique au cours de la période A (Figure 5-12B). Celle-ci est exportée immédiatement puisque dès le deuxième point de prélèvement en période B1 la signature spécifique de K3 est à nouveau observée. L'observation d'un changement de composition moléculaire comparable à K1 à la transition A/B1 pourrait être interprétée comme l'arrivée dans la zone humide riparienne du réservoir de versant. La constitution de ce réservoir au cours de la période A est cependant contradictoire avec les données de concentration en COD qui indiquent que le réservoir est déjà formé en début de période A. De plus, l'export rapide qui semble être observé par l'isotopie et la composition moléculaire des phénols est en contradiction avec l'export progressif suggéré par l'évolution des concentrations en COD.

Ce réservoir qui semble se constituer la première année à K3 et qui possède une composition moléculaire bien spécifique pourrait être issu de la lixiviation des résidus de

culture ou encore de l'ajout d'amendements organiques tel que du lisier porcin. La montée de la nappe dans l'horizon organique provoquant alors son export vers la zone humide riparienne via la macroporosité des sols. Cependant, au cours de la deuxième année, ce réservoir ne se forme pas dans la zone de versant. Les modifications de composition observées en K1 à la transition A/B1 la première année sont observées la deuxième année le 16/12/14 et le 20/01/15, alors que cette composition moléculaire spécifique n'est pas observée à K3. De plus, ces modifications de compositions moléculaires ne correspondent pas avec l'évolution de la signature isotopique observée pour cette deuxième année. Par conséquent, les évolutions de la distribution des phénols pourraient être dues à d'autres mécanismes que celui de transfert d'un réservoir de versant.

Le suivi pluriannuel de la composition isotopique des MOD le long du versant agricole de Kerrolland semble donc confirmer l'hypothèse du transfert d'un réservoir de MOD du fait de la dynamique de nappe qui permet de mettre en place une continuité hydrologique entre le haut du versant et la zone humide riparienne. Cependant, la distribution des phénols utilisée ici comme traceur moléculaire ne permet pas de confirmer cette observation. Il est possible que la réactivité des MOD au cours de leur transport induise une modification de leur composition moléculaire. Ces potentielles interactions ne modifieraient que peu la signature isotopique mais pourraient impacter la distribution des phénols avec par exemple des phénomènes de sorption spécifique sur les phases minérales.

4.2 Impact des conditions hydrologiques sur la composition des MOD

Les changements de composition moléculaires observés à K1 peuvent-ils être liés à un changement des conditions hydrologiques?

Dans le Chapitre 4, nous avons montré que les conditions hydrologiques, et plus particulièrement le gradient hydrologique, induisaient lors des événements de crue une modification de la composition des MOD présentes dans la solution de sol en circulation dans la macroporosité de l'horizon organique à K1. Les changements de compositions moléculaires observés à plusieurs reprises à K1 lors des deux premières années de suivi pendant l'échantillonnage basse fréquence pourraient être dus à des prélèvements effectués pendant des épisodes de crues pour lesquels le gradient hydraulique est élevé.

L'ACP construite à partir des solutions de sol de K1 et K3 échantillonnées à basse fréquence pour lesquelles les solutions de sol des crues 1 et 2 ont été ajoutées comme échantillons supplémentaires montre que les solutions de sol prélevées en crue sont caractérisées par des valeurs plus négatives sur la composante 1 que la distribution moyenne enregistrée sur les trois années à K1 (Figure 5-14). L'hypothèse proposée dans le Chapitre 4 pour expliquer ce changement de composition moléculaire de la MOD est la mobilisation de colloïdes dans les macropores du fait de l'augmentation de la pression exercée par l'eau sur les parois des macropores (DeNovio et al., 2004; Majdalani et al., 2008). La dynamique de nappe, illustrée par le ΔH qui correspond à la différence de hauteur de nappe entre K2 et K3, a alors été proposée comme facteur de contrôle de la modification de composition moléculaire. L'évolution de la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP calculée avec la distribution des phénols en fonction du ΔH pour les solutions de sol en K1 échantillonnées en basse fréquence pendant les 3 ans et en haute fréquence pendant les crues 1 et 2 (Chapitre 4) est représentée Figure 5-15. La bande orangée indique la valeur moyenne et l'écart type des solutions de sol échantillonnées en basse fréquence sur les trois années hydrologiques. Il est ainsi possible d'observer une valeur seuil de ΔH pour laquelle la distribution moléculaire change, avec une coordonnée plus négative sur la composante 1 de l'ACP des phénols. Au cours des trois ans d'échantillonnage basse fréquence, les échantillons caractérisés par une valeur plus négative sur la composante 1 de l'ACP ont bien été échantillonnés lorsque le ΔH était élevé. Les changements de compositions observés pourraient ainsi être attribués au mécanisme d'érosion colloïdale décrit dans le Chapitre 4. On note toutefois un échantillon qui sort de ce schéma. L'échantillon du 19/12/13 possède une valeur très négative sur la composante 1 de l'ACP comparé au ΔH mesuré au moment de son échantillonnage (Figure 5-15). Cet échantillon est caractérisé par des précipitations très importantes avant cette date de prélèvement avec 35 mm pendant les 5 jours précédents, dont 24 mm la veille. Ces fortes pluies ont eu lieu en partie lorsque l'horizon de surface n'était pas saturé, puisque la saturation de l'horizon de surface se produit le 18/12/13. L'infiltration verticale des précipitations lorsque l'horizon n'était pas saturé a pu initier l'érosion macroporale du fait de la circulation rapide de l'eau dans les macropores. Par la suite, la saturation de l'horizon de surface et l'augmentation du ΔH ont permis de continuer à apporter les conditions hydrologiques favorables à la déstabilisation macroporale. Cependant le début de l'érosion lorsque l'horizon n'était pas saturé a pu permettre d'obtenir une modification de la distribution des phénols plus importante que ce qu'aurait pu

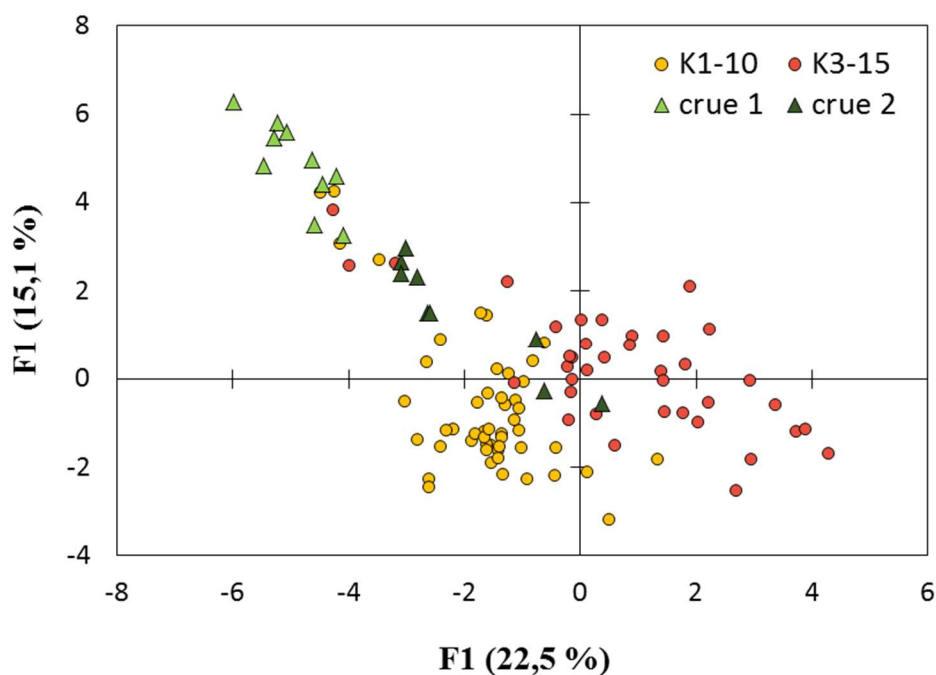


Figure 5-14 : Résultats de l'ACP effectué à partir de la distribution des phénols des solutions de sol prélevées sur le transect de Kerrolland (K1-10 cm et K3-15 cm). Les échantillons de solutions de sol prélevées à K1-10 cm pendant les crues 1 et 2 ont été ajoutés en tant que données complémentaires.

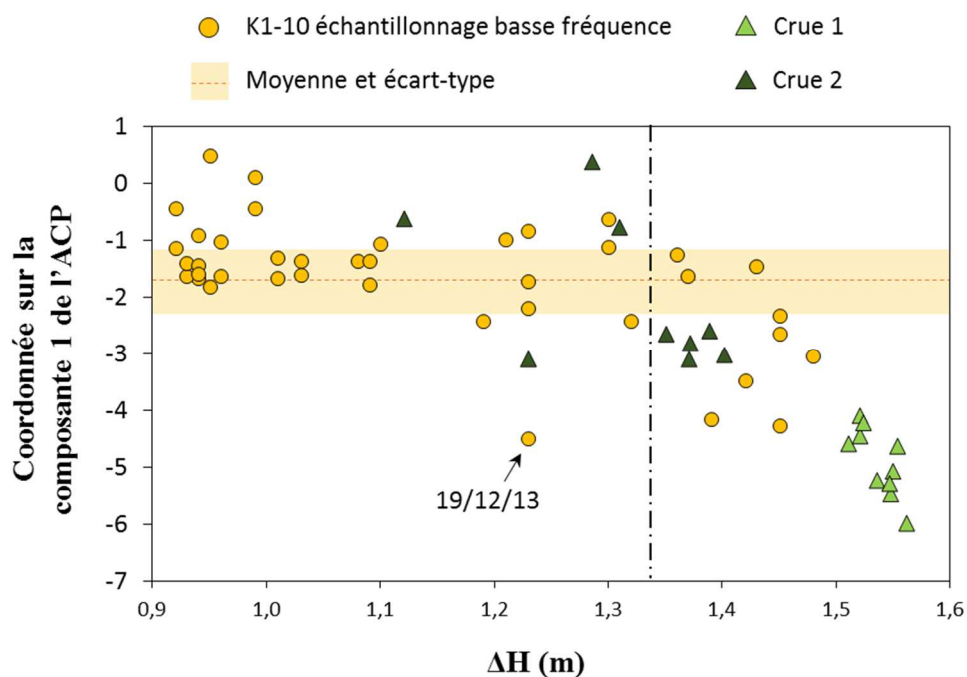


Figure 5-15 : Evolution de la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP en fonction du ΔH pour les solutions de sol prélevées à K1-10 pendant l'échantillonnage basse fréquence au cours des trois ans de suivi et haute fréquence pendant les crues 1 et 2.

générer uniquement l'augmentation du ΔH , ce qui expliquerait l'obtention d'une coordonnée très négative sur la composante 1 de l'ACP alors que le ΔH n'est que de 1,23m.

D'après l'ensemble de ces observations, le gradient hydraulique semble donc expliquer en grande partie les variations de distribution des phénols observées en K1 lors des échantillonnages basse fréquence réalisés au cours des trois ans de suivi. Les différences de conditions hydrologiques en place lors des dates de prélèvement et en particulier l'échantillonnage des solutions de sol lorsque le ΔH est élevé permet d'observer des mécanismes de solubilisation de MOD spécifiques n'ayant lieu que sur des périodes de temps courtes au cours de l'année hydrologique.

Les modifications observées en K3 peuvent-elle être expliquées par le même mécanisme?

Au cours des quatre premières dates de prélèvement de l'année 2013/2014, le 29/10, 5/11, 12/11 et 19/12, la nappe en K3 se trouvait en profondeur, l'horizon organique était non saturé (Figure 5-10). Pour ces quatre dates, le cumul de précipitations des 5 jours précédents le prélèvement était de 51, 41, 48 et 29 mm respectivement. De telles quantités de précipitations sur un sol non saturé est de nature à provoquer une réhumectation du sol et une circulation verticale rapide de l'eau de pluie à travers les macropores. Cette circulation verticale de l'eau de pluie dans les macropores est identifiée comme favorisant l'érosion macroporale (Mohanty et al., 2015). Ces précipitations faisant suite à une période de faibles précipitations et faible teneur en eau du sol, ces conditions sont également favorables à la présence de bulles d'air dans le sol qui se déplacent le long de la macroporosité avec l'infiltration des précipitations qui arrivent en abondance dans le sol. Ces bulles d'air peuvent être considérées comme un facteur supplémentaire favorisant la mobilisation colloïdale (El-Farhan et al., 2000). Les interfaces eau/air ont été identifiées comme des zones d'accumulation de colloïdes, retenues par des forces de capillarité ou des forces électrostatiques (DeNovio et al., 2004). Alors que ces conditions favorables à une déstabilisation colloïdale sont observées pour ces quatre premières dates d'échantillonnage, le changement de distribution des phénols est observé uniquement pour les dates du 12/11 et du 19/12. Une situation similaire est observable pour l'année 2014/2015. Pour la première date de prélèvement le 20/10, la signature caractéristique de K3 est observée puis une valeur plus négative sur la composante 1 de l'ACP est enregistrée à la deuxième date de prélèvement le 7/11 (Figure 5-12B). Dans les 5 jours précédents le

prélèvement, les précipitations étaient respectivement de 18 et 59 mm. Là encore, le changement de composition observé le 7/11 peut être attribuable à l'érosion macroporale. Au cours de l'année 2015/2016, le prélèvement du 7/1 montre également une valeur plus négative sur la composante 1 de l'ACP (Figure 5-12B) pouvant s'expliquer par l'érosion macroporale, l'horizon organique étant saturé et le cumul des précipitations sur les 5 jours précédents atteignant 42 mm.

Les précipitations qui ont eu lieu les jours précédents les dates d'échantillonnage du 29/10/13, 5/11/13 et 20/10/14 sont importantes et auraient pu déclencher une érosion macroporale. L'impact de ce mécanisme n'est cependant pas visible sur la distribution des phénols. Une première hypothèse permettant d'expliquer cette absence de changements de composition moléculaire est la réhumectation des sols. Une partie des précipitations a pu être utilisée pour réhumecter le sol et alimenter la microporosité, réduisant ainsi la quantité d'eau disponible pour la circulation et l'érosion macroporale, et inhibant par conséquent le changement de distribution des phénols. Une hypothèse alternative expliquant l'ensemble de ces observations est le changement de composition des MOD en K3 par d'autres mécanismes que l'érosion macroporale.

Le deuxième prélèvement pour lequel une valeur plus négative selon la composante 1 de l'ACP a été observée au cours de l'année 2014/2015 a lieu le 2/12 (Figure 5-12B). À cette date, l'horizon organique était continuellement saturé depuis le 7/11 et les précipitations étaient de 1 mm le jour même et 0 mm au cours des 5 jours précédents. Au cours de l'année 2015/2016 le prélèvement du 1/3/16 présente également une valeur plus négative selon la composante 1 de l'ACP alors que l'horizon organique est saturé et que les précipitations étaient de 1,5 mm le jour même et 0,5 mm les 5 jours précédents. Par conséquent, l'érosion macroporale en lien avec le gradient hydraulique ne peut pas expliquer cette modification de la distribution des phénols.

Suite à ces observations il apparaît donc que la distribution des phénols issus de la HMT-CPG-SM des MOD prélevées en K3 pourrait être influencée par la vitesse de circulation de l'eau dans les macropores. Cependant ce mécanisme seul n'est pas en mesure d'expliquer l'ensemble de la variabilité de la distribution des phénols lors de la période A et à la transition A/B1 des solutions de sol échantillonnées à K3. Étant donné qu'une majorité des sols du transect de Kerrolland est utilisée à des fins agricoles, les pratiques culturales peuvent potentiellement avoir un impact sur la composition moléculaire des MOD et plus précisément sur la distribution des phénols.

4.3 Conséquences d'une baisse de la vitesse de circulation de l'eau sur la biogéochimie des MOD.

4.3.1 Cas de la zone humide riparienne

Dans la zone humide riparienne à K1, la baisse du niveau de la nappe dans le versant en lien avec la diminution des précipitations induit une baisse du gradient hydraulique et par conséquent la diminution de la vitesse de circulation de l'eau dans les sols. À cette période de l'année, les sols sont toujours saturés à K1. Par conséquent la diminution d'apport d'eau dans la zone humide ne permet pas d'apporter suffisamment d'oxygène dissous pour maintenir des conditions aérobies dans les sols, celui-ci étant utilisé comme accepteur d'électrons par les microorganismes présents dans les sols. On observe alors la mise en place de conditions anaérobiques. Ce changement conduit les microorganismes à utiliser d'autres accepteurs d'électrons que l'oxygène suivant la séquence d'oxydo-réduction nitrates / oxydes de manganèse / oxydes de fer. Dans le bassin versant de Kervidy-Naizin, la bioréduction des oxydes de fer pendant les phases anaérobiques sont bien renseignées, tout comme l'augmentation de la concentration en COD dans les solutions de sol lors de cette période de l'année hydrologique, et en particulier dans les zones humides ripariennes (Gu et al., 2017; Lambert et al., 2013; Olivie-Lauquet et al., 2001).

Ces phases de bioréduction se mettent en place au cours des trois années hydrologiques au printemps et sont visibles par l'augmentation de la concentration en Fe II dans les solutions de sol (Figure 5-10). Dans le même temps, on observe une augmentation de la concentration en COD des solutions de sol. Dans l'horizon organique la corrélation observée entre la concentration en Fe II et la concentration en COD pendant les périodes B2 des trois années de suivi montre que les quantités de COD solubilisées dans la solution de sol sont d'autant plus importantes que la bioréduction des oxydes de fer est intense (Figure 5-5). Ces observations sont cohérentes avec les observations de Knorr (2013) qui ont montré une corrélation similaire entre ces deux paramètres. Les oxydes de fer sont connus pour leurs capacités de sorption vis-à-vis de la MOD (Tipping, 1981). Ces phases interviennent notamment dans le concept de transfert réactif de la MOD à travers la microporosité et la macroporosité des sols (Kaiser et Kalbitz, 2012; Worrall et al., 2008) et seraient en partie responsable de la baisse de l'aromaticité de la MOD au cours de ce transfert du fait de la forte interaction entre les oxydes

de fer et les molécules aromatiques (Eusterhues et al., 2011; Riedel et al., 2013). Etant donné l'augmentation importante de la concentration en COD dans les solutions de sol prélevées dans la macroporosité au moment de la bioréduction des oxydes de fer (période B2) au cours des trois années de suivi (Figure 5-10), mais également le fractionnement effectué par ces oxydes pour les molécules aromatiques, une différence dans la distribution des phénols peut être attendue. Cependant, en considérant uniquement les échantillons prélevés avec un ΔH inférieur à 1,34 m, il n'existe pas de différence significative entre la distribution des phénols enregistrée pendant les trois années en période B1 ($n = 15$) et en période B2 ($n = 13$) d'après le test de Kolmogorov-smirnov ($\alpha = 0.95$; p -value = 0.75). Cette absence de différence entre la distribution des phénols en période B1 et B2 alors que la concentration en COD augmente en période B2 du fait de la solubilisation de MOD, consécutivement à la bioréduction des oxydes de fer, pourrait indiquer une similarité dans le mécanisme de solubilisation des lignines et tannins entre ces deux périodes. Lors de la période B1, la MOD est initialement solubilisée dans la microporosité du sol puis passe dans la macroporosité par des phénomènes de diffusion (Worrall et al., 2008). Nous pouvons émettre l'hypothèse de la solubilisation de la MOD par bioréduction des oxydes de fer dans la microporosité, les conditions réductrices dans cette catégorie de pores étant liées à la problématique de diffusion des espèces chimiques de la macroporosité vers la microporosité, et plus particulièrement de l'oxygène. En conditions saturés, le renouvellement de l'oxygène dissous de la microporosité est possible grâce à la diffusion depuis la macroporosité, gouvernée par la différence de concentration existant entre la macro et microporosité. La probabilité de diffusion de l'oxygène diminue ainsi avec l'éloignement dans la microporosité. Il pourrait donc en résulter l'établissement de conditions réductrices dans ces micro-environnements alors même que l'eau circule et que l'oxygénation est suffisante dans la macroporosité pour maintenir des conditions oxydantes. Le front red-ox se situerait donc au niveau de la microporosité. Lorsque le gradient hydraulique diminue et que la vitesse de renouvellement de l'eau ne permet plus d'apporter une quantité suffisante d'oxygène dissous, le front redox pourrait migrer depuis la microporosité vers la macroporosité. Alors que le déplacement du front redox dans les zones humides est communément décrit comme vertical et gouverné par la dynamique de nappe (Fiedler et Sommer, 2004; Mansfeldt, 2003; Niedermeier et Robinson, 2007), les résultats obtenus pourraient ajouter une dimension horizontale par le déplacement de long du continuum micro-macroporosité (Figure 5-16).

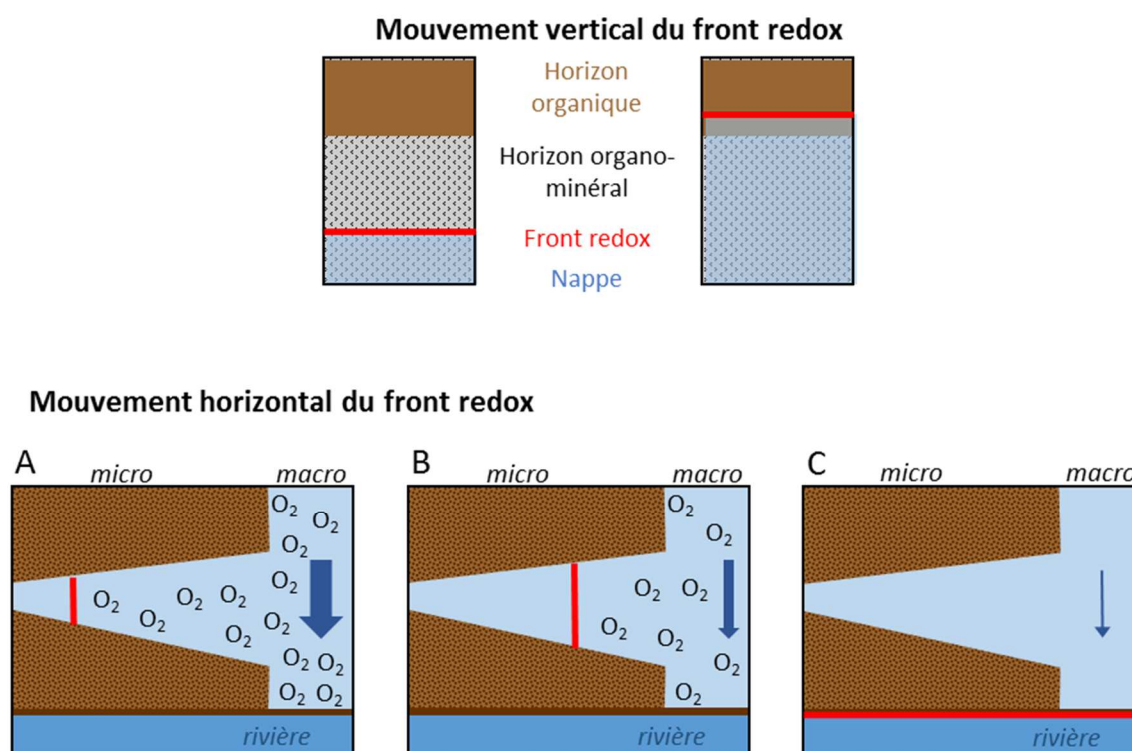


Figure 5-16: Représentation schématique du mouvement vertical et horizontal du front redox dans les sols soumis à une saturation en eau.

4.3.2 Cas du versant agricole

En plus des variations négatives de la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP des phénols pour les solutions de sol de la zone K3, des variations positives sont observées pendant la période B (Figure 5-12B). L'augmentation est la plus faible la première année et particulièrement marquée la deuxième et troisième année. Les variations vers des valeurs plus négatives lorsque le ΔH est élevé sont associées à une MOD composée de lignines et tannins moins biodégradés. Il est alors possible que les valeurs plus positives soient caractéristiques d'une MOD composée de lignines plus biodégradés. La biodégradation des lignines n'est pas uniforme. Ainsi, les unités C (acides féruliques et coumariques) sont plus rapidement dégradées que les unités V (acide vanillique, vanillaldéhyde et acétovanillone) résultant en une diminution du rapport C/V au cours de la dégradation (Hedges et Weliky, 1989; Opsahl et Benner, 1995). Un test de corrélation a été effectué entre le C/V et la valeur sur la composante 1 de l'ACP pour les MOD prélevées en K3 au cours de la période B (Figure 5-17). Avec une p -value de 0,02, ce

test souligne l'existence d'une corrélation entre ces deux paramètres. Le coefficient de Pearson de -0,48 indique une anti-corrélation. Ainsi, plus la valeur selon la composante 1 de l'ACP est élevée et plus le C/V est faible, indiquant une biodégradation plus importante des lignines. Cependant, le coefficient de détermination obtenu est faible ($R^2 = 0,23$), indiquant que la diminution du C/V n'est pas le seul paramètre à l'origine du changement vers les valeurs plus positives sur la composante 1 de l'ACP.

En période B l'horizon organique est saturé en K3 et on se trouve dans un environnement non calcaire, les sols étant développés sur des schistes Briovériens. Dans de tels environnements la minéralisation des MO s'accompagne d'une accumulation du CID qui est alors produit par la minéralisation. Pour le même jeu de données utilisé précédemment, la corrélation entre la concentration en CID et la valeur sur la composante 1 de l'ACP a été testée (Figure 5-18). La p -value $< 0,002$ obtenue met en évidence la corrélation existante entre ces deux paramètres. Le coefficient de Pearson de 0,70 et le coefficient de détermination de 0,49 confirment l'existence d'un lien entre ces deux variables. Une augmentation de la valeur sur la composante 1 de l'ACP indique une augmentation de la biodégradation et donc une minéralisation plus importante des MOD expliquant l'augmentation de concentration en CID des solutions de sol. Lors de l'année 2013/2014 caractérisée par des précipitations très abondantes, la nappe a atteint l'horizon organique à K4 contrairement aux autres années (Figure 5-11). Par conséquent la vitesse de circulation de l'eau était élevée cette année à K3 du fait de la pression de l'eau dans la macroporosité du sol. Les deux années suivantes l'horizon organique à K3 était toujours saturé, mais les précipitations plus faibles n'ont pas permis à la nappe d'atteindre l'horizon organique à K4, ne permettant pas une circulation rapide de l'eau dans les macropores. Cette différence de conditions hydrologique pourrait expliquer la différence de variation selon la composante 1 de l'ACP entre la première année et les deux années successives. Au cours de la première année, la vitesse de circulation de l'eau diminue la probabilité de rencontre entre les MOD et les microorganismes (Dungait et al., 2012), réduisant ainsi leur biodégradation et leur minéralisation, ce qui se traduit par une augmentation plus faible de la concentration en CID et de la valeur le long de la composante 1 de l'ACP. Au contraire les vitesses de circulation plus lentes les deux années suivantes augmentent les probabilités de rencontre entre les MOD et les microorganismes, augmentant leur biodégradation et la minéralisation, ce qui se traduit par une augmentation plus forte de la concentration en CID et de la valeur sur la composante 1 de l'ACP.

Contrairement à la zone humide riparienne, l'apport régulier en oxygène au cours des trois années de suivi ne permet pas l'établissement de conditions réductrices.

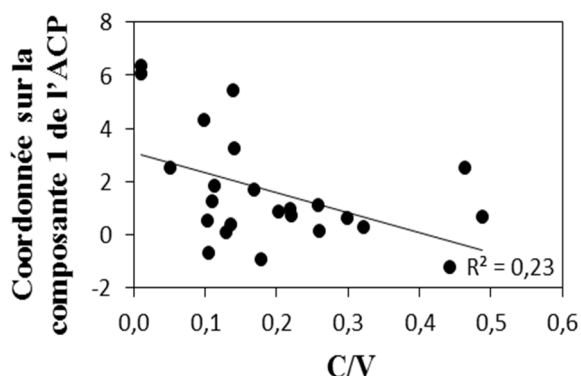


Figure 5-17 : Corrélation entre la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP et le rapport C/V pour les solutions de sol prélevées à K3-15 pendant la période B

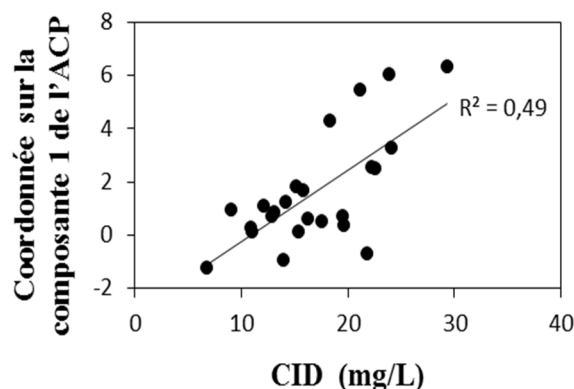


Figure 5-18 : Corrélation entre la coordonnée sur la composante 1 de l'ACP et la concentration en CID pour les solutions de sol échantillonnées à K3-15 en période B.

5. Conclusion

Les données d'isotopie du carbone des solutions de sol ont permis de confirmer la possibilité d'utiliser ce paramètre comme traceur d'un transfert de versant. Les données obtenues pendant les deux ans de suivi ont permis de confirmer la mise en place d'un transfert de versant en lien avec l'établissement d'une connexion hydrologique entre le haut et le bas du versant. Ce mécanisme ayant été précédemment proposé suite à des analyses réalisées sur les MOD présentes dans la rivière à l'exutoire du bassin versant.

La différence de distribution des phénols observée entre les MOD des solutions de sol prélevées dans le haut du versant et dans la zone humide riparienne fait de ce paramètre un traceur adéquate pour suivre un potentiel transfert de versant. Les données obtenues pendant les trois ans de suivi ne se sont pas révélées cohérentes avec l'hypothèse d'un transfert de versant. La réactivité des MOD vis-à-vis des phases minérales et des microorganismes du sol ayant pu conduire à une modification de leur composition moléculaire sans impacter significativement la signature isotopique.

Les modifications de composition observées à K1 ainsi qu'une partie des modifications observées à K3 ont pu être reliée avec des conditions hydrologiques spécifiques, ces

échantillons ayant été prélevés dans les quelques jours suivant un épisode de précipitations intenses. Or ces conditions particulières ont été identifiées comme pouvant modifier la composition moléculaire de la MOD par la mise en place d'érosion colloïdale dans la microporosité du sol.

Ces analyses moléculaires réalisées pendant les trois années hydrologiques ont également permis de comparer la composition moléculaire des MOD exportées avant et pendant la phase de bioréduction des oxydes de fer dans la zone humide riparienne. Alors que la concentration en COD augmente fortement, traduisant la libération de MOD par la bioréduction des oxydes de fer, aucun changement significatif de distribution des phénols n'a été détecté. L'hypothèse proposée pour expliquer ces observations est le déplacement du front redox le long de la porosité.

Au contraire, dans la zone de haut de versant, les changements de compositions moléculaires observés semblent être liés à l'accessibilité des MOD vis-à-vis des microorganismes. La baisse de la vitesse de la circulation de l'eau augmentant la probabilité pour les MOD d'être biodégradées, induisant ainsi une modification de leur composition moléculaire.

L'ensemble de ces observations permettent de mettre en avant le rôle prépondérant de la dynamique de nappe et donc des conditions hydrologiques dans les mécanismes de solubilisation et de transport des MOD, depuis les sols jusqu'aux systèmes aquatiques.

Conclusions et perspectives

En se plaçant à l'échelle d'un petit bassin versant élémentaire en contexte agricole, l'objectif de ce travail de thèse a été d'étudier les mécanismes de solubilisation et de transfert des matières organiques dissoutes par l'apport de leur composition moléculaire via l'utilisation de la HMT-CPG-SM.

La première étape de ce travail, présenté dans le Chapitre 3, a consisté en une étude méthodologique concernant la filtration d'échantillons naturels aqueux contenant de la MOD. La problématique traitée dans ce chapitre était la suivante : ***la porosité des filtres utilisés lors de la filtration des échantillons a-t-elle un impact sur la composition moléculaire de la MOD ainsi isolée ?*** L'effet de l'utilisation de filtres de porosités différentes a été déterminé dans de précédentes études pour des paramètres tels que la concentration en COD ou la signature isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$). Cependant, aucune étude n'a été réalisée concernant la composition moléculaire de la MOD. Ces études comparatives sont nécessaires afin de permettre la comparaison de résultats provenant de différentes études pour lesquelles la filtration des échantillons a été réalisée avec des filtres de porosité différente.

Les résultats obtenus ont permis de confirmer l'absence de différences significatives entre les deux seuils de filtration utilisés pour des descripteurs globaux tels que la concentration en COD, la signature isotopique du carbone ou le SUVA à deux longueurs d'ondes communément utilisées pour la caractérisation des MOD (254 et 280 nm). La distribution des 43 molécules étudiées a également permis de confirmer l'absence de différences significatives entre les deux seuils de filtration utilisés. Il est par conséquent possible de comparer des résultats de composition moléculaires provenant de différentes études pour lesquels les échantillons ont été filtrés avec des filtres de porosité différentes.

Les résultats semi-quantitatifs réalisés sur les données moléculaires ont toutefois permis de mettre en évidence une concentration plus élevée dans les échantillons filtrés à 0,2 μm comparé aux échantillons filtrés à 0,7 μm . Cette observation a été attribué à « l'effet bouclier » des phases minérales présents en plus grande quantité dans les échantillons filtrés à 0,7 μm . Ce

biais analytique due à la complexation des MOD sur les phases minérales est connue comme pouvant diminuer le rendement analytique.

L'absence de différences significatives entre les résultats obtenus pour les échantillons filtrés avec les deux filtres de porosités différentes a posé question dans le contexte d'un continuum de taille entre les MOP et les MOD décrit dans un grand nombre de publications. Les porosités des filtres à 0,2 et 0,7 μm correspondent au domaine de taille des colloïdes. L'hypothèse proposée pour expliquer l'absence de différences significatives implique la structure de ces colloïdes et les forces appliquées lors de la filtration. En effet, les assemblages supramoléculaires entre les phases organiques et minérales qui forment les colloïdes sont maintenus essentiellement par des liaisons de faible énergie. Les forces appliquées lors de la filtration peuvent être suffisantes pour casser ces liaisons et permettre à des colloïdes de taille comprise entre 0,2 et 0,7 μm de se fragmenter.

Cette hypothèse proposée dans cette étude permettrait ainsi de concilier l'absence de différences significatives observées entre les deux seuils de filtration avec le continuum de taille MOP-MOD et les assemblages supramoléculaires entre phases minérales et phases organiques qui constituent les colloïdes.

La deuxième étape de ce travail, présenté dans le Chapitre 4, a consisté en l'étude de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol lors d'épisodes de crues. La problématique traitée dans ce chapitre était la suivante : ***lors des épisodes de crues, y a-t-il une modification de la composition moléculaire de la MOD des solutions de sol en lien avec la mise en place d'une érosion macroporale ?*** L'émergence de cette problématique fait suite aux travaux de Jeanneau et al. (2015) menés sur le bassin versant de Kervidy-Naizin. L'étude de la composition des MOD exportées par la rivière à l'exutoire du bassin pendant plusieurs crues a permis de mettre en évidence une modification de la composition moléculaire des MOD. L'hypothèse proposée pour expliquer les variations observées était la mise en place de phénomènes d'érosion macroporale dans les sols en lien avec une augmentation de la vitesse de circulation de l'eau. C'est sur cette hypothèse que s'est basée l'étude réalisée dans le deuxième volet de ce travail de thèse.

Les trois crues pour lesquelles la solution de sol et l'eau de rivière à l'exutoire ont été échantillonnées à haute fréquence ont permis d'observer une modification de la composition

moléculaire des MOD dans la solution de sol cohérente avec la modification observée à la rivière à l'exutoire du bassin versant. Ces modifications sont également cohérentes avec les hypothèses proposées par Jeanneau et al. (2015).

Ces changements de composition moléculaire ont été attribués à la combinaison de deux processus, l'un physique et l'autre chimique. Le processus physique correspond à l'hypothèse proposée précédemment, à savoir l'érosion colloïdale et/ou particulaire des parois des macropores en lien avec l'augmentation de la vitesse de circulation de l'eau dans les sols. En effet, la montée de la nappe dans le versant pendant les crues du fait de l'augmentation des précipitations conduit à une augmentation de la pression et de la vitesse de l'eau dans la macroporosité du sol. Par conséquent, la signature moléculaire de la MOD devrait correspondre à la signature de la MOS, ce qui n'est pas observé pour les trois crues échantillonnées dans cette étude. Pour expliquer cette différence, l'hypothèse proposée fait intervenir un mécanisme chimique en complément du mécanisme physique précédemment décrit. Ce mécanisme consiste en une ségrégation chimique basée sur l'hydrophobicité des macromolécules organiques. Les macromolécules les plus hydrophiles étant plus facilement solubilisées que les molécules les plus hydrophobes. Cette ségrégation chimique est cohérente avec les observations faites pendant les trois crues échantillonnées.

Les trois événements de crues pour lesquels l'échantillonnage haute fréquence de la solution de sol et de la rivière à l'exutoire ont été mis en place ont permis de mettre en évidence une variabilité de l'intensité des changements de composition moléculaire, aussi bien dans les solutions de sol qu'à l'exutoire. En se basant sur la littérature scientifique portant sur la mobilisation colloïdale plusieurs paramètres ont pu être proposés pour expliquer cette variabilité inter-événementielle.

- (i) L'intensité de l'évènement de crue semble expliquer une partie de cette variabilité. En effet, nous avons pu établir un lien entre la modification de la composition moléculaire et l'intensité de la montée de la nappe dans le versant. Les modifications les plus importantes étant observées lorsque la nappe monte le plus haut dans le versant. Ces événements de crues pourraient conduire à une vitesse de circulation de l'eau plus élevée dans les macropores, apportant une énergie plus conséquente qui pourrait être responsable d'une érosion plus intense dans les macropores.
- (ii) Les conditions hydrologiques pendant la période qui précède la crue semblent également avoir une incidence sur l'intensité de la modification de composition moléculaire de la MOD dans les solutions de sol. En effet, la durée séparant deux crues et les conditions

d'humidité du sol avant la crue ont été identifiées comme pouvant avoir un impact sur la mobilisation des colloïdes. Des conditions d'humidité défavorables à la création de colloïdes où l'occurrence d'un événement de crue dans les jours précédant la crue étudiée pourraient avoir pour conséquence la présence d'un stock limité ou encore l'absence de colloïdes disponibles à l'érosion.

Pour faire suite à ces résultats obtenus dans le deuxième volet de cette thèse, plusieurs dispositifs peuvent être envisagés afin de continuer à développer cette problématique. Les hypothèses proposées afin d'expliquer la variabilité inter-événementielle pourraient être testées par un volet d'expérimentation en laboratoire et par l'observation en milieu naturel.

L'expérimentation en laboratoire par la constitution de colonnes de sols non remaniés pourrait être utilisée. Faire circuler de l'eau à différentes vitesses dans ces colonnes pourrait permettre (i) d'essayer de recréer la modification de la composition des MOD solubilisées pendant un épisode de crue et (ii) tenter de mettre en évidence la relation entre vitesse de circulation de l'eau et intensité de la modification de la composition moléculaire. Ce dispositif expérimental pourrait également permettre de tester l'impact des conditions hydrologiques dans les jours précédant la crue sur le changement de composition moléculaire. L'impact de ces paramètres pourrait être testé en modifiant l'humidité des colonnes de sol ou la durée entre la simulation de deux crues.

L'échantillonnage de crues supplémentaires sur le bassin versant de Kervidy-Naizin pourrait également permettre de préciser l'impact des paramètres précédemment cités en prenant soin d'échantillonner des crues aux caractéristiques différentes (quantité de précipitations, conditions hydrologiques dans les jours précédents la crue...). En effet, la multiplication des crues échantillonnées pourrait permettre de diversifier les conditions hydrologiques observées avant les crues et pendant les crues. Réaliser ces échantillonnages reste toutefois délicat puisqu'il repose entièrement sur la variabilité météorologique et la capacité à mettre en place un échantillonnage réactif au moment de l'arrivée d'une crue. Les prédictions météorologiques actuelles sont un outil assez efficace pour la prédiction de l'arrivée d'un épisode de précipitations. La précision quant à l'intensité des pluies et leur capacité à générer un événement de crue reste toutefois limitée.

L'hypothèse de la mise en place du mécanisme d'érosion colloïdale a été proposée dans un cadre environnemental particulier à savoir un bassin versant élémentaire dominé par les activités agricoles. Appliquer cette approche méthodologique à d'autres bassins versants

présentant des tailles, des climats et des occupations du sol différents pourrait permettre d'identifier la possibilité de générer ce même mécanisme dans des environnements contrastés.

La troisième étape de ce travail, présenté dans le Chapitre 5, a consisté en une étude de l'hétérogénéité et de l'évolution de la composition moléculaire des MOD à l'échelle du bassin versant.

La première partie de ce chapitre a porté sur l'hétérogénéité de la dynamique de solubilisation et d'export des MOD, ainsi que l'hétérogénéité de la composition moléculaire des MOD à l'échelle du bassin versant. A partir de l'échantillonnage bimensuel mis en place pendant trois ans sur le bassin versant, j'ai pu confirmer le rôle majeur des conditions hydrologiques dans la dynamique de solubilisation et d'export des MOD, déjà décrit par plusieurs auteurs. En effet, les conditions hydrologiques conditionnent la mise en place de conditions réductrices, principalement dans les zones humides ripariennes à l'origine de la solubilisation d'une quantité importante de MOD à travers le bassin versant. Les conditions de saturation et d'insaturation ont également été identifiées comme facteur de contrôle de la dynamique d'export des MOD sur le transect de Kerrolland. La même relation n'a cependant pas pu être mise en évidence sur le transect de Guériniac. L'hétérogénéité de la composition moléculaire sur l'ensemble du bassin versant observée par l'utilisation de la HMT-CPG-SM a essentiellement permis de distinguer les sols agricoles des sols de prairies et de zones humides. L'évolution verticale de la composition moléculaire semble quant à elle contrôlée par les conditions hydrologiques et l'impact anthropique des pratiques culturales.

La deuxième partie de ce chapitre a porté sur la dynamique de transfert des MOD à l'échelle d'un versant. La problématique traitée était la suivante : ***existe-t-il un transfert de versant en lien avec l'évolution des conditions hydrologiques au cours de l'année ?*** L'émergence de cette problématique fait suite aux travaux portant sur la signature isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) au cours d'évènements de crues réalisés par Lambert et al. (2014) sur le bassin versant de Kervidy-Naizin, et s'est focalisée sur le transect de Kerrolland. Les deux ans de suivi de la signature isotopique du carbone ($\delta^{13}\text{C}$) ont permis de confirmer la possibilité d'utiliser ce paramètre comme traceur du transfert d'un réservoir de MOD localisé dans le versant. Les résultats obtenus ont permis de confirmer la mise en place d'un transfert de versant sur le transect de Kerrolland, en lien avec la montée de la nappe dans le versant et la création

d'un continuum hydrologique entre le versant, la zone humide riparienne et la rivière. Les résultats semblent en effet montrer l'arrivée dans la zone humide riparienne de MOD provenant du versant au moment de l'établissement d'une connectivité hydrologique.

En complément des analyses isotopiques, j'ai également évalué la possibilité d'utiliser la composition moléculaire des MOD dans le but de différencier la zone de versant de la zone humide riparienne. Dans cet objectif, la distribution des phénols issus des lignines et des tannins ont été identifiés comme un paramètre permettant de distinguer ces deux zones du versant. Cependant, l'évolution de ce paramètre au cours des trois ans de suivi ne s'est pas révélée cohérente avec l'hypothèse d'un transfert de versant. La réactivité des MOD vis-à-vis des phases minérales et des microorganismes a ainsi pu conduire à une modification de leur composition moléculaire. Les possibilités d'interaction des MOD sont nombreuses au cours de leur transport. Leur transfert le long du continuum sol-rivière ne peut donc être considéré comme conservatif.

Une partie des variations de la distribution des phénols observées sur le versant ont pu être reliées à l'occurrence d'événements de crues au moment du prélèvement de l'échantillon ou dans les jours qui ont précédés leur échantillonnage. Cette observation a démontré l'importance de la prise en compte des processus de solubilisation des MOD qui ont lieu sur de courtes échelles temporelle pour l'interprétation des processus qui ont lieu sur de grandes échelles temporelles.

L'échantillonnage bimensuel réalisé au cours des trois ans a également permis d'observer l'évolution de la composition moléculaire des MOD au cours de la phase de bioréduction des oxydes de fer dans la zone humide riparienne. Aucune différence significative n'a été observée entre la distribution des phénols pendant et en dehors de la phase de bioréduction des oxydes de fer, alors qu'une grande quantité de MOD sont solubilisées par ce processus. Ces observations suggèrent un concept complémentaire à celui précédemment décrit de la mobilité du front redox dans les sols avec l'hypothèse d'une mobilité de ce front le long de la porosité du sol.

L'utilisation de la distribution des phénols a été identifiée comme permettant de distinguer les deux zones du versant mais ne s'est pas révélée adéquate pour mettre en évidence un transfert de versant. Les informations apportées par la HMT-CPG-SM sont conséquentes et pourraient continuer d'être étudiées afin de tester l'efficacité d'autres paramètres quant à la mise en évidence d'un transfert de versant.

Cette approche méthodologique par l'analyse moléculaire de solutions de sol échantillonnées à basse fréquence pendant plusieurs années hydrologiques pourrait être appliquée à des versants caractérisés par un climat ou une occupation du sol contrastée.

Pour faire suite à ces résultats obtenus dans le troisième volet de cette thèse, nous pouvons nous poser la question du devenir des MOD produites dans les sols pendant la phase de bioréduction des oxydes de fer. En effet, lors de leur transfert vers la rivière, ces MOD passent de conditions réductrices dans les sols à des conditions oxydantes lorsqu'elles arrivent au niveau des berges de la rivière. Pendant cette période hydrologique, on observe alors la présence d'un front d'oxydation le long des berges. Ce front d'oxydation est visible par la présence de précipités d'oxydes de fer qui forment des amas sur lesquels se développent des biofilms microbiens qui signent la présence d'une activité biologique intense. De plus, les MOD ont la possibilité de se complexer à ces oxydes de fer. Nous pouvons donc nous poser la question du devenir des MOD dans ces réacteurs biogéochimiques. De plus ces amas composés d'oxydes de fer et de sédiments fins sont instables et pourraient être mobilisés et transportés le long du cours d'eau lors de l'augmentation du débit pendant les événements de pluie.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de cette thèse ont permis de démontrer l'efficacité de l'application de la HMT-CPG-SM afin de répondre à des problématiques diverses concernant la dynamique de solubilisation et d'export des MOD à l'échelle d'un bassin versant.

Comparé à d'autres techniques d'analyses moléculaires tels que la spectrométrie de masse très haute résolution, la HMT-CPG-SM apporte un niveau de précision différent sur la composition moléculaire des MOD. En revanche, l'analyse est moins coûteuse et permet de traiter un nombre plus important d'échantillons.

Par conséquent, la HMT-CPG-SM permet de trouver un bon compromis entre le niveau de précision apporté sur la composition moléculaire de l'échantillon et le temps d'analyse et d'interprétation des spectres obtenus. Dans le cadre de cette thèse, cette technique d'analyse a permis d'apporter un niveau de précision adéquat pour pouvoir traiter les problématiques abordées, tout en permettant d'analyser un nombre conséquent d'échantillons.

Bibliographie

- Adler, E., 1977. Lignin chemistry: past, present and future. *Wood Sci. Technol.* 11, 169–218.
- Ågren, A., Buffam, I., Jansson, M., Laudon, H., 2007. Importance of seasonality and small streams for the landscape regulation of dissolved organic carbon export. *J. Geophys. Res.* 112. doi:10.1029/2006JG000381
- Aitkenhead, J.A., Hope, D., Billett, M.F., 1999. The relationship between dissolved organic carbon in stream water and soil organic carbon pools at different spatial scales. *Hydrol. Process.* 13, 1289–1302.
- Ambroise, B., 2004. Variable “active” versus “contributing” areas or periods: a necessary distinction. *Hydrol. Process.* 18, 1149–1155. doi:10.1002/hyp.5536
- Atteia, O., Kozel, R., 1997. Particle size distributions in waters from a karstic aquifer: from particles to colloids. *J. Hydrol.* 201, 102–119.
- Aubert, A.H., Gascuel-Oudoux, C., Gruau, G., Akkal, N., Fauchoux, M., Fauvel, Y., Grimaldi, C., Hamon, Y., Jaffrézic, A., Lecoq-Boutnik, M., Molénat, J., Petitjean, P., Ruiz, L., Merot, P., 2013. Solute transport dynamics in small, shallow groundwater-dominated agricultural catchments: insights from a high-frequency, multisolute 10 yr-long monitoring study. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 17, 1379–1391. doi:10.5194/hess-17-1379-2013
- Aufdenkampe, A.K., Mayorga, E., Hedges, J.I., Llerena, C., Quay, P.D., Gudeman, J., Krusche, A.V., Richey, J.E., 2007. Organic matter in the Peruvian headwaters of the Amazon: Compositional evolution from the Andes to the lowland Amazon mainstem. *Org. Geochem.* 38, 337–364. doi:10.1016/j.orggeochem.2006.06.003
- Azam, F., Malfatti, F., 2007. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 782–791. doi:10.1038/nrmicro1747
- Bauer, M., Blodau, C., 2006. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Sci. Total Environ.* 354, 179–190. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.01.027
- Bergendahl, J.A., Grasso, D., 2003. Mechanistic basis for particle detachment from granular media. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2317–2322. doi:10.1021/es0209316
- Bianchi, T.S., Argyrou, M., Chippett, H.F., 1999. Contribution of vascular-plant carbon to surface sediments across the coastal margin of Cyprus (eastern Mediterranean). *Org. Geochem.* 30, 287–297.
- Billett, M.F., Deacon, C.M., Palmer, S.M., Dawson, J.J.C., Hope, D., 2006. Connecting organic carbon in stream water and soils in a peatland catchment. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 111, n/a–n/a. doi:10.1029/2005JG000065
- Bishop, K., Seibert, J., Köhler, S., Laudon, H., 2004. Resolving the double paradox of rapidly mobilized old water with highly variable responses in runoff chemistry. *Hydrol. Process.* 18, 185–189. doi:10.1002/hyp.5209
- Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M., 2003. Lignin Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54, 519–546. doi:10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938

- Bol, R., Ostle, N.J., Friedrich, C., Amelung, W., Sanders, I., 1999. The influence of dung amendments on dissolved organic matter in grassland soil leachates: preliminary results from a lysimeter study. *Isotopes in Environmental and Health Studies*. 35, 97-109
- Bossio, D.A., Scow, K.M., 1998. Impacts of carbon and flooding on soil microbial communities: phospholipid fatty acid profiles and substrate utilization patterns. *Microb. Ecol.* 35, 265–278.
- Boyer, E.W., Hornberger, G.M., Bencala, K.E., McKnight, D., 1996. Overview of a simple model describing variation of dissolved organic carbon in an upland catchment. *Ecol. Model.* 86, 183–188.
- Boyer, E.W., Hornberger, G.M., Bencala, K.E., McKnight, D.M., 1997. Response characteristics of DOC flushing in an alpine catchment. *Hydrol. Process.* 11, 1635–1647.
- Bracken, L.J., Wainwright, J., Ali, G.A., Tetzlaff, D., Smith, M.W., Reaney, S.M., Roy, A.G., 2013. Concepts of hydrological connectivity: Research approaches, pathways and future agendas. *Earth-Sci. Rev.* 119, 17–34. doi:10.1016/j.earscirev.2013.02.001
- Bricaud, A., Morel, A., Prieur, L., 1981. Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains. *Limnol. Oceanogr.* 26, 43–53.
- Bronstert, A., Bardossy, A., 1999. The role of spatial variability of soil moisture for modelling surface runoff generation at the small catchment scale. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 3, 505–516.
- Bu, X., Wang, L., Ma, W., Yu, X., McDowell, W.H., Ruan, H., 2010. Spectroscopic characterization of hot-water extractable organic matter from soils under four different vegetation types along an elevation gradient in the Wuyi Mountains. *Geoderma* 159, 139–146. doi:10.1016/j.geoderma.2010.07.005
- Buffam, I., Galloway, J.N., Blum, L.K., McGlathery, K.J., 2001. A stormflow/baseflow comparison of dissolved organic matter concentrations and bioavailability in an Appalachian stream. *Biogeochemistry* 53, 269–306.
- Buffle, J., Leppard, G.G., 1995. Characterization of aquatic colloids and macromolecules. 1. Structure and behavior of colloidal material. *Environ. Sci. Technol.* 29, 2169–2175.
- Caverly, E., Kaste, J.M., Hancock, G.S., Chambers, R.M., 2013. Dissolved and particulate organic carbon fluxes from an agricultural watershed during consecutive tropical storms. *Geophys. Res. Lett.* 40, 5147–5152. doi:10.1002/grl.50982
- Challinor, J.M., 2001. Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 61, 3–34.
- Chantigny, M.H., 2003. Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma* 113, 357–380. doi:10.1016/S0016-7061(02)00370-1
- Chantigny, M.H., Angers, D.A., Rochette, P., 2002. Fate of carbon and nitrogen from animal manure and crop residues in wet and cold soils. *Soil Biol. Biochem.* 34, 509-517.
- Chefetz, B., Tarchitzky, J., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Chen, Y., 2002. Structural characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agricultural soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 129–141.

- Chen, Z.-J., Tian, Y.-H., Zhang, Y., Song, B.-R., Li, H.-C., Chen, Z.-H., 2016. Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 92, 243–250. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.04.001
- Cheng, T., Schampelaere, K.D., Lofts, S., Janssen, C., Allen, H.E., 2005. Measurement and computation of zinc binding to natural dissolved organic matter in European surface waters. *Anal. Chim. Acta* 542, 230–239. doi:10.1016/j.aca.2005.03.053
- Christophersen, N., Neal, C., Hooper, R.P., Vogt, R.D., Andersen, S., 1990. Modelling streamwater chemistry as a mixture of soilwater end-members - a step towards second generation acidification models. *J. Hydrol.* 116, 307–320.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., Jones, C., Le Quéré, C., Myneni, R.B., Piao, S., Thornton, P., 2013. Carbon and other biogeochemical cycles, in: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 465–570.
- Cliffort, D.J., Carson, D.M., McKinney, D.E., Bortiatynski, J.M., Hatcher, P.G., 1995. A new rapid technique for the characterization of lignin in vascular plants : thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxyde. *Org. Geochem.* 23, 169–175.
- Close, D.C., McArthur, C., 2002. Rethinking the role of many plant phenolics—protection from photodamage not herbivores? *Oikos* 99, 166–172.
- Coumou, D., Rahmstorf, S., 2012. A decade of weather extremes. *Nat. Clim. Change*. doi:10.1038/nclimate1452
- Covino, T., 2017. Hydrologic connectivity as a framework for understanding biogeochemical flux through watersheds and along fluvial networks. *Geomorphology* 277, 133–144. doi:10.1016/j.geomorph.2016.09.030
- Cox, P., Betts, R., Jones, C.D., Spall, S.A., Totterdell, I.J., 2000. Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature* 408, 184–187.
- Dalzell, B.J., Filley, T.R., Harbor, J.M., 2005. Flood pulse influences on terrestrial organic matter export from an agricultural watershed. *J. Geophys. Res.* 110. doi:10.1029/2005JG000043
- Delpla, I., Baurès, E., Jung, A.-V., Thomas, O., 2011. Impacts of rainfall events on runoff water quality in an agricultural environment in temperate areas. *Sci. Total Environ.* 409, 1683–1688. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.01.033
- DeNovio, N.M., Saiers, J.E., Ryan, J.N., 2004. Colloid movement in unsaturated porous media. *Vadose Zone J.* 3, 338–351.
- Detty, J.M., McGuire, K.J., 2010. Topographic controls on shallow groundwater dynamics: implications of hydrologic connectivity between hillslopes and riparian zones in a till mantled catchment. *Hydrol. Process.* 24, 2222–2236. doi:10.1002/hyp.7656
- Doederer, K., Gernjak, W., Weinberg, H.S., Farré, M.J., 2014. Factors affecting the formation of disinfection by-products during chlorination and chloramination of secondary effluent for the production of high quality recycled water. *Water Res.* 48, 218–228. doi:10.1016/j.watres.2013.09.034

- Dosskey, M.G., Bertsch, P.M., 1994. Forest sources and pathways of organic matter transport to a blackwater stream : a hydrologic approach. *Biogeochemistry* 24, 1–19.
- Drenovsky, R.E., Elliott, G.N., Graham, K.J., Scow, K.M., 2004. Comparison of phospholipid fatty acid (PLFA) and total soil fatty acid methyl esters (TSFAME) for characterizing soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1793–1800. doi:10.1016/j.soilbio.2004.05.002
- Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., Whitmore, A.P., 2012. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Glob. Change Biol.* 18, 1781–1796. doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02665.x
- Dupas, R., Gruau, G., Gu, S., Humbert, G., Jaffrézic, A., Gascuel-Oudou, C., 2015a. Groundwater control of biochemical processes causing phosphorus release from riparian wetlands. *Water Res.* 84, 307–314
- Dupas, R., Gascuel-Oudou, C., Gilliet, N., Grimaldi, C., Gruau, G., 2015b. Distinct export dynamics for dissolved and particulate phosphorus reveal independent transport mechanisms in an arable headwater catchment. *Hydrol. Process.* 29, 3162–3178. doi:10.1002/hyp.10432
- Easthouse, K.B., 1992. Dissolve dorganic carbon fraction in soil and stream water during variable hydrological conditions at birkenes, Southern Norway. *Water Resour. Res.* 28, 1585–1596.
- Eckhardt, B.W., Moore, T.R., 1990. Controls on dissolved organic carbon concentrations in streams, southern Quebec. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47, 1537–1544.
- Eganhouse, R.P., 1997. Molecular markers and environmental organic geochemistry: an overview, in: *Molecular Markers in Environmental Geochemistry*. ACS Publications.
- Eiler, A., Langenheder, S., Bertilsson, S., Tranvik, L.J., 2003. Heterotrophic Bacterial Growth Efficiency and Community Structure at Different Natural Organic Carbon Concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3701–3709. doi:10.1128/AEM.69.7.3701-3709.2003
- El-Farhan, Y.H., DeNovio, N.M., Herman, J.S., Hornberger, G.M., 2000. Mobilization and Transport of Soil Particles during Infiltration Experiments in an Agricultural Field, Shenandoah Valley, Virginia. *Environ. Sci. Technol.* 34, 3555–3559. doi:10.1021/es991099g
- Esfahani, M.R., Stretz, H.A., Wells, M.J.M., 2015. Abiotic reversible self-assembly of fulvic and humic acid aggregates in low electrolytic conductivity solutions by dynamic light scattering and zeta potential investigation. *Sci. Total Environ.* 537, 81–92. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.08.001
- Estévez, S.L., Helleur, R., 2005. Fatty acid profiling of lipid classes by silica rod TLC-thermally assisted hydrolysis and methylation–GC/MS. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 74, 3–10. doi:10.1016/j.jaap.2004.11.017
- Eusterhues, K., Rennert, T., Knicker, H., Kögel-Knabner, I., Totsche, K.U., Schwertmann, U., 2011. Fractionation of organic matter due to reaction with ferrihydrite: coprecipitation versus adsorption. *Environ. Sci. Technol.* 45, 527–533.
- Fabbri, D., Helleur, R., 1999. Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 277–293.

- Faure, P., Schlepp, L., Mansuy-Huault, L., Elie, M., Jardé, E., Pelletier, M., 2006. Aromatization of organic matter induced by the presence of clays during flash pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry (PyGC-MS). *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 75, 1–10. doi:10.1016/j.jaap.2005.02.004
- Fiebig, D.M., Lock, M.A., Neal, C., 1990. Soil water in the riparian zone as a source of carbon for a headwater stream. *J. Hydrol.* 116, 217–237.
- Fiedler, S., Sommer, M., 2004. Water and redox conditions in wetland soils—their influence on pedogenic oxides and morphology. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 326–335.
- Fierer, N., Schimel, J.P., Holden, P.A., 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biol. Biochem.* 35, 167–176.
- Filella, M., Buffle, J., 1993. Factors controlling the stability of submicron colloids in. *J. Colloids Surf.* 73, 255–273.
- Frazier, S.W., Nowack, K.O., ~ns, K.M., Cannon, F.S., Kaplan, L.A., Hatcher, P.G., 2003. Characterization of organic matter from natural waters using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis GC-MS. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 70, 99–128.
- Friedlingstein, P., Cox, P., Betts, R., Bopp, L., Von Bloh, W., Brovkin, V., Cadule, P., Doney, S., Eby, M., Fung, I., others, 2006. Climate-carbon cycle feedback analysis: results from the C4MIP model intercomparison. *J. Clim.* 19, 3337–3353.
- Frostegard, A., Tunlid, A., Baath, E., 1993. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol.*
- Futter, M.N., Butterfield, D., Cosby, B.J., Dillon, P.J., Wade, A.J., Whitehead, P.G., 2007. Modeling the mechanisms that control in-stream dissolved organic carbon dynamics in upland and forested catchments. *Water Resour. Res.* 43. doi:10.1029/2006WR004960
- Gaillardet, J., Viers, J., Dupré, B., 2003. Trace elements in river waters, in: *Treatise on Geochemistry*. pp. 225–272.
- Gandois, L., Tipping, E., Dumat, C., Probst, A., 2010. Canopy influence on trace metal atmospheric inputs on forest ecosystems: Speciation in throughfall. *Atmos. Environ.* 44, 824–833. doi:10.1016/j.atmosenv.2009.11.028
- Goñi, M.A., Hedges, J.I., 1992. Lignin dimers: structures, distribution, and potential geochemical applications. *Geochim. Cosmochim. Acta* 56, 4025–4043.
- Gonsior, M., Schmitt-Kopplin, P., Stavklint, H., Richardson, S.D., Hertkorn, N., Bastviken, D., 2014. Changes in Dissolved Organic Matter during the Treatment Processes of a Drinking Water Plant in Sweden and Formation of Previously Unknown Disinfection Byproducts. *Environ. Sci. Technol.* 48, 12714–12722. doi:10.1021/es504349p
- Grasset, L., Rovira, P., Amblès, A., 2009. TMAH-preparative thermochemolysis for the characterization of organic matter in densimetric fractions of a Mediterranean forest
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Ebbelwhite, N., Dobson, G., 1999. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates. *Soil Biol. Biochem.* 31, 145–153.
- Gruau, G., Dia, A., Olivie-Lauquet, G., Davranche, M., Pinay, G., 2004. Controls on the distribution of rare earth elements in shallow groundwaters. *Water Res.* 38, 3576–3586. doi:10.1016/j.watres.2004.04.056

- Grybos, M., Davranche, M., Gruau, G., Petitjean, P., 2007. Is trace metal release in wetland soils controlled by organic matter mobility or Fe-oxyhydroxides reduction? *J. Colloid Interface Sci.* 314, 490–501. doi:10.1016/j.jcis.2007.04.062
- Grybos, M., Davranche, M., Gruau, G., Petitjean, P., Pédrot, M., 2009. Increasing pH drives organic matter solubilization from wetland soils under reducing conditions. *Geoderma* 154, 13–19. doi:10.1016/j.geoderma.2009.09.001
- Gu, B., Schmitt, J., Chen, Z., Liang, L., McCarthy, J.F., 1995. Adsorption and desorption of different organic matter fractions on iron oxide. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59, 219–229.
- Gu, B., Schmitt, J., Chen, Z., Liang, L., McCarthy, J.F., 1994. Adsorption and desorption of natural organic matter on iron oxide: mechanisms and models. *Environ. Sci. Technol.* 28, 38–46.
- Gu, S., Gruau, G., Dupas, R., Rumpel, C., Crème, A., Fovet, O., Gascuel-Oudou, C., Jeanneau, L., Humbert, G., Petitjean, P., 2017. Release of dissolved phosphorus from riparian wetlands: Evidence for complex interactions among hydroclimate variability, topography and soil properties. *Sci. Total Environ.* 598, 421–431. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.04.028
- Guezennec, J., Fiala-Medioni, A., 1996. Bacterial abundance and diversity in the Barbados Trench determined by phospholipid analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 19, 83–93.
- Guggenberger, G., Zech, W., 1994. Composition and dynamics of dissolved carbohydrates and lignin-degradation products in two coniferous forests, N.E. Bavaria, Germany. *Soil Biol. Biochem.* 26, 19–27.
- Gunina, A., Kuzyakov, Y., 2015. Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate. *Soil Biol. Biochem.* 90, 87–100. doi:10.1016/j.soilbio.2015.07.021
- Haddad, R.I., Newell, S.Y., Martens, C.S., Fallon, R.D., 1992. Early diagenesis of lignin-associated phenolics in the salt marsh grass *Spartina alterniflora*. *Geochim. Cosmochim. Acta* 56, 3751–3764.
- Hagedorn, F., Saurer, M., Blaser, P., 2004. A ¹³C tracer study to identify the origin of dissolved organic carbon in forested mineral soils. *Eur. J. Soil Sci.* 55, 91–100. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00578.x
- Hagedorn, F., Schleppi, P., Waldner, P., Flühler, H., 2000. Export of dissolved organic carbon and nitrogen from Gleysol dominated catchments—the significance of water flow paths. *Biogeochemistry* 50, 137–161.
- Hedges, J.I., Mann, D.C., 1979. The characterization of plant tissues by their lignin oxidation products. *Geochim. Cosmochim. Acta* 43, 1803–1807.
- Hedges, J.I., Weliky, K., 1989. Diagenesis of conifer needles in coastal marine environment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 53, 2659–2673.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 53, 955–969.

- Hernes, P.J., Kaiser, K., Dyda, R.Y., Cerli, C., 2013. Molecular trickery in soil organic matter : Hidden lignin. *Env. Sci. Tech.* 47, 9077-9085.
- Hernes, P.J., Spencer, R.G.M., Dyda, R.Y., Pellerin, B.A., Bachand, P.A.M., Bergamaschi, B.A., 2008. The role of hydrologic regimes on dissolved organic carbon composition in an agricultural watershed. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72, 5266–5277. doi:10.1016/j.gca.2008.07.031
- Hernes, P.J., Robinson, A.C., Aufdenkampe, A.K., 2007. Fractionation of lignin during leaching and sorption and implications for organic matter “freshness”. *Geophys. Res. Lett.* 34. doi:10.1029/2007GL031017
- Higuchi, T., 1990. Lignin biochemistry : Biosynthesis and biodegradation. *Wood Sci. Technol.* 24, 23–63.
- Hinton, M.J., Schiff, S.L., English, M.C., 1998. Sources and flowpaths of dissolved organic carbon during storms in two forested watersheds of the Precambrian Shield. *Biogeochemistry* 41, 175–197.
- Hood, E., Gooseff, M.N., Johnson, S.L., 2006. Changes in the character of stream water dissolved organic carbon during flushing in three small watersheds, Oregon. *J. Geophys. Res.* 111. doi:10.1029/2005JG000082
- Hooper, R.P., Christophersen, N., Peters, N.E., 1990. Modelling streamwater chemistry as a mixture of soilwater end-members—An application to the Panola Mountain catchment, Georgia, USA. *J. Hydrol.* 116, 321–343.
- Humbert, G., Jaffrézic, A., Fovet, O., Gruau, G., Durand, P., 2015. Dry-season length and runoff control annual variability in stream DOC dynamics in a small, shallow groundwater-dominated agricultural watershed. *Water Resour. Res.* 51, 7860–7877.
- Inamdar, S.P., Mitchell, M.J., 2006. Hydrologic and topographic controls on storm-event exports of dissolved organic carbon (DOC) and nitrate across catchment scales. *Water Resour. Res.* 42, n/a–n/a. doi:10.1029/2005WR004212
- IPCC 2014 : R.K. Pachauri and L.A. Meyer, R.K., 2014. Climate Change 2014, Synthesis report. IPCC, Geneva, Switzerland.
- Jardine, P.M., Weber, N.L., McCarthy, J.F., 1989. Mechanisms of dissolved organic carbon adsorption on soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1387–1385.
- Jarvis, N.J., 2007. A review of non-equilibrium water flow and solute transport in soil macropores: principles, controlling factors and consequences for water quality. *Eur. J. Soil Sci.* 58, 523–546. doi:10.1111/j.1365-2389.2007.00915.x
- Jarvis, N.J., Villholth, K.G., Ulen, B., 1999. Modelling particle mobilization and leaching in macroporous soil. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 621–632.
- Jeanneau, L., Denis, M., Pierson-Wickmann, A.-C., Gruau, G., Lambert, T., Petitjean, P., 2015. Sources of dissolved organic matter during storm and inter-storm conditions in a lowland headwater catchment: constraints from high-frequency molecular data. *Biogeosciences* 12, 4333–4343. doi:10.5194/bg-12-4333-2015
- Jeanneau, L., Jaffrezic, A., Pierson-Wickmann, A.-C., Gruau, G., Lambert, T., Petitjean, P., 2014. Constraints on the sources and production mechanisms of dissolved organic matter in soils from molecular biomarkers. *Vadose Zone J.* 13, 0.

- Jencso, K.G., McGlynn, B.L., 2011. Hierarchical controls on runoff generation: Topographically driven hydrologic connectivity, geology, and vegetation. *Water Resour. Res.* 47. doi:10.1029/2011WR010666
- Jencso, K.G., McGlynn, B.L., Gooseff, M.N., Bencala, K.E., Wondzell, S.M., 2010. Hillslope hydrologic connectivity controls riparian groundwater turnover: Implications of catchment structure for riparian buffering and stream water sources. *Water Resour. Res.* 46. doi:10.1029/2009WR008818
- Jencso, K.G., McGlynn, B.L., Gooseff, M.N., Wondzell, S.M., Bencala, K.E., Marshall, L.A., 2009. Hydrologic connectivity between landscapes and streams: Transferring reach- and plot-scale understanding to the catchment scale. *Water Resour. Res.* 45. doi:10.1029/2008WR007225
- Jensen, L.S., Mueller, T., Magid J, Nielsen N.E., 1997. Temporal variation of C and N mineralization, microbial biomass and extractable organic pools in soil after oilseed rape straw incorporation in the field. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1043-1055.
- Jiang, T., Kaal, J., Liang, J., Zhang, Y., Wei, S., Wang, D., Green, N.W., 2017. Composition of dissolved organic matter (DOM) from periodically submerged soils in the Three Gorges Reservoir areas as determined by elemental and optical analysis, infrared spectroscopy, pyrolysis-GC-MS and thermally assisted hydrolysis and methylation. *Sci. Total Environ.* 603-604, 461–471. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.06.114
- Kaal, J., Cortizas, A.M., Biester, H., 2017. Downstream changes in molecular composition of DOM along a headwater stream in the Harz mountains (Central Germany) as determined by FTIR, Pyrolysis-GC-MS and THM-GC-MS. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 126, 50–61. doi:10.1016/j.jaap.2017.06.025
- Kabuyah, R.N.T.M., van Dongen, B.E., Bewsher, A.D., Robinson, C.H., 2012. Decomposition of lignin in wheat straw in a sand-dune grassland. *Soil Biol. Biochem.* 45, 128–131. doi:10.1016/j.soilbio.2011.10.014
- Kaiser, K., Guggenberger, G., Haumaier, L., 2004. Changes in dissolved lignin-derived phenols, neutral sugars, uronic acids, and amino sugars with depth in forested Haplic Arenosols and Rendzic Leptosols. *Biogeochemistry* 70, 135–151.
- Kaiser, K., Kalbitz, K., 2012. Cycling downwards - dissolved organic matter in soils. *Soil Biol. Biochem.* 52, 29–32. doi:10.1016/j.soilbio.2012.04.002
- Kaiser, K., Zech, W., 1999. Release of natural organic matter sorbed to oxides and a subsoil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1157–1166.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.-H., Michalzik, B., Matzner, E., 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils : a review. *Soil Sci.* 165, 277–304.
- Kaneda, T., 1991. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* 55, 288–302.
- Kaplan, D.I., Bertsch, P.M., Adriano, D.C., Miller, W.P., 1993. Soil-borne mobile colloids as influenced by water flow and organic carbon. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1193–1200.
- Karhu, K., Auffret, M.D., Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Prosser, J.I., Singh, B.K., Subke, J.-A., Wookey, P.A., Ågren, G.I., Sebastià, M.-T., Gouriveau, F., Bergkvist, G., Meir, P.,

- Nottingham, A.T., Salinas, N., Hartley, I.P., 2014. Temperature sensitivity of soil respiration rates enhanced by microbial community response. *Nature* 513, 81–84. doi:10.1038/nature13604
- Kawasaki, N., Benner, R., 2006. Bacterial release of dissolved organic matter during cell growth and decline: molecular origin and composition. *Limnol. Oceanogr.* 51, 2170–2180.
- Killops, S.D., Killops, V.J., 2005. Chemical composition of organic matter, in: *Introduction to Organic Geochemistry*. Blackwell Pub, Malden, MA.
- Kirk, T.K., Farrell, R.L., 1987. Enzymatic“ combustion”: the microbial degradation of lignin. *Annu. Rev. Microbiol.* 41, 465–501.
- Kleber, M., Johnson, M.G., 2010. Advances in understanding the molecular structure of soil organic matter, in: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp. 77–142.
- Klotzbücher, T., Kaiser, K., Filley, T.R., Kalbitz, K., 2013. Processes controlling the production of aromatic water-soluble organic matter during litter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 67, 133–139. doi:10.1016/j.soilbio.2013.08.003
- Knauer, K., Homazava, N., Junghans, M., Werner, I., 2017. The influence of particles on bioavailability and toxicity of pesticides in surface water: Pesticides and Particles in Surface Water. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 585–600. doi:10.1002/ieam.1867
- Knorr, K.-H., 2013. DOC-dynamics in a small headwater catchment as driven by redox fluctuations and hydrological flow paths : are DOC exports mediated by iron reduction/oxidation cycles? *Biogeosciences* 10, 891–904. doi:10.5194/bg-10-891-2013
- Koch, B.P., Witt, M., Engbrodt, R., Dittmar, T., Kattner, G., 2005. Molecular formulae of marine and terrigenous dissolved organic matter detected by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, 3299–3308. doi:10.1016/j.gca.2005.02.027
- Kögel, I., 1986. Estimation and decomposition pattern of the lignin component in forest humus layer. *Soil Biol. Biochem.* 18, 589–594.
- Kögel-Knabner, I., 2000. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Org. Geochem.* 31, 609–625.
- Kolattukudy, P.E., 2001. Polyesters in higher plants, in: *Biopolyesters*. Springer, pp. 1–49.
- Kolattukudy, P.E., 1984. Biochemistry and function of cutin and suberin. *Can. J. Bot.* 62, 2918–2933.
- Kolattukudy, P.E., 1980. Biopolyester membranes of plants : cutin and suberin. *Science* 208, 990–1000.
- Krässig, H., 1993. Effects of structure and morphology on accessibility and reactivity, in: *Cellulose: Structure, Accessibility and Reactivity*. Gordon and Breach Science Publishers, pp. 167–324.
- Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Zasoski, R.J., 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems : a review. *Plant Soil* 256, 41–66.
- Krieg, N.R., 2005. Procaryotic domains, in: *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, pp. 21–26.

- Kuroda, K., 2002. Electron-impact (EI) mass spectra of 1, 2-dimethoxybenzenes related to the pyrolysis products of guaiacyl lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 64, 433–451.
- Kuroda, K., Nishimura, N., Izumi, A., Dimmel, D.R., 2002. Pyrolysis of lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide: a convenient method for S/G ratio determination. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1022–1027. doi:10.1021/jf011198p
- Kuroda, K.-I., Nakagawa-izumi, A., 2006. Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis of lignin: Improvement of the distribution profile of products derived from β -aryl ether subunits. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 75, 104–111. doi:10.1016/j.jaap.2005.04.011
- Kuzyakov, Y., Domanski, G., 2000. Carbon input by plants into the soil. Review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, 421–431.
- Laegdsmand, M., Villholth, K.G., Ullum, M., Jensen, K.H., 1999. Processes of colloid mobilization and transport in macroporous soil monoliths. *Geoderma* 93, 33–59.
- Lambert, T., Pierson-Wickmann, A.-C., Gruau, G., Jaffrezic, A., Petitjean, P., Thibault, J.N., Jeanneau, L., 2014. DOC sources and DOC transport pathways in a small headwater catchment as revealed by carbon isotope fluctuation during storm events. *Biogeosciences* 11, 3043–3056. doi:10.5194/bg-11-3043-2014
- Lambert, T., Pierson-Wickmann, A.-C., Gruau, G., Jaffrezic, A., Petitjean, P., Thibault, J.-N., Jeanneau, L., 2013. Hydrologically driven seasonal changes in the sources and production mechanisms of dissolved organic carbon in a small lowland catchment: Seasonal Changes in Doc Dynamics. *Water Resour. Res.* 49, 5792–5803. doi:10.1002/wrcr.20466
- Lambert, T., Pierson-Wickmann, A.-C., Gruau, G., Thibault, J.-N., Jaffrezic, A., 2011. Carbon isotopes as tracers of dissolved organic carbon sources and water pathways in headwater catchments. *J. Hydrol.* 402, 228–238. doi:10.1016/j.jhydrol.2011.03.014
- Landa, M., Cottrell, M.T., Kirchman, D.L., Kaiser, K., Medeiros, P.M., Tremblay, L., Batailler, N., Caparros, J., Catala, P., Escoubeyrou, K., Oriol, L., Blain, S., Obernosterer, I., 2014. Phylogenetic and structural response of heterotrophic bacteria to dissolved organic matter of different chemical composition in a continuous culture study: Bacterial diversity and dissolved organic matter. *Environ. Microbiol.* 16, 1668–1681. doi:10.1111/1462-2920.12242
- Laurichesse, S., Avérous, L., 2014. Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. *Prog. Polym. Sci.* 39, 1266–1290. doi:10.1016/j.progpolymsci.2013.11.004
- Le Meur, M., Mansuy-Huault, L., Lorgeoux, C., Bauer, A., Gley, R., Vantelon, D., Montargès-Pelletier, E., 2017. Spatial and temporal variations of particulate organic matter from Moselle River and tributaries: A multimolecular investigation. *Org. Geochem.* 110, 45–56. doi:10.1016/j.orggeochem.2017.04.003
- Lechevalier, M.P., Moss, C.W., 1977. Lipids in bacterial taxonomy-a taxonomist's view. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 5, 109–210.
- Lee, C.S., Sung, T.M., Kim, H.S., Jeon, C.H., 2012. Classification of forensic soil evidences by application of THM-PyGC/MS and multivariate analysis. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 96, 33–42. doi:10.1016/j.jaap.2012.02.017

- Lehtonen, T., Peuravuori, J., Pihlaja, K., 2003. Comparison of quaternary methyl-, ethyl- and butylammonium hydroxides as alkylating reagents in pyrolysis-GC/MS studies of aquatic fulvic acid. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 68-69, 315–329. doi:10.1016/S0165-2370(03)00050-0
- Leinweber, P., Schulten, H.-R., 1999. Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 359–383.
- Logue, J.B., Stedmon, C.A., Kellerman, A.M., Nielsen, N.J., Andersson, A.F., Laudon, H., Lindström, E.S., Kritzberg, E.S., 2016. Experimental insights into the importance of aquatic bacterial community composition to the degradation of dissolved organic matter. *ISME J.* 10, 533–545.
- Ludwig, W., Amiotte Suchet, P., Probst, J.-L., 1996. River discharges of carbon to the world's oceans: determining local inputs of alkalinity and of dissolved and particulate organic carbon. *Sci. Terre Planètes Comptes Rendus Académie Sci.* 323, 1007–1014.
- Majdalani, S., Michel, E., Di-Pietro, L., Angulo-Jaramillo, R., 2008. Effects of wetting and drying cycles on in situ soil particle mobilization. *Eur. J. Soil Sci.* 59, 147–155. doi:10.1111/j.1365-2389.2007.00964.x
- Mansfeldt, T., 2003. In situ long-term redox potential measurements in a dyked marsh soil. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166, 210–219.
- Marschner, B., Kalbitz, K., 2003. Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma* 113, 211–235. doi:10.1016/S0016-7061(02)00362-2
- Matsuda, H., Koyama, K., 1977. Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments: II. A statistical approach to changes in fatty acid composition from recent sediments and some source materials. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 1825–1834.
- McDowell, W.H., 2003. Dissolved organic matter in soils—future directions and unanswered questions. *Geoderma* 113, 179–186. doi:10.1016/S0016-7061(02)00360-9
- McDowell, W.H., Likens, G.E., 1988. Origin, Composition, and Flux of Dissolved Organic Carbon in the Hubbard Brook Valley. *Ecol. Monogr.* 58, 177–195. doi:10.2307/2937024
- McDowell, W.H., Wood, T., 1984. Podzolization: soil processes control dissolved organic carbon concentrations in stream water. *Soil Sci.* 137, 23–32.
- McGlynn, B.L., McDonnell, J.J., 2003. Role of discrete landscape units in controlling catchment dissolved organic carbon dynamics. *Water Resour. Res.* 39, n/a–n/a. doi:10.1029/2002WR001525
- Mei, Y., Hornberger, G.M., Kaplan, L.A., Newbold, J.D., Aufdenkampe, A.K., 2012. Estimation of dissolved organic carbon contribution from hillslope soils to a headwater stream: dissolved organic carbon from soils to stream. *Water Resour. Res.* 48. doi:10.1029/2011WR010815
- Michalzik, B., Matzner, E., 1999. Dynamics of dissolved organic nitrogen and carbon in a Central European Norway spruce ecosystem. *Eur. J. Soil Sci.* 50, 579–590.
- Michalzik, B., Tipping, E., Mulder, J., Lancho, J.G., Matzner, E., Bryant, C.L., Clarke, N., Lofts, S., Esteban, M.V., 2003. Modelling the production and transport of dissolved organic carbon in forest soils. *Biogeochemistry* 66, 241–264.

- Mikutta, R., Mikutta, C., Kalbitz, K., Scheel, T., Kaiser, K., Jahn, R., 2007. Biodegradation of forest floor organic matter bound to minerals via different binding mechanisms. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 2569–2590. doi:10.1016/j.gca.2007.03.002
- Mohanty, S.K., Saiers, J.E., Ryan, J.N., 2015. Colloid Mobilization in a Fractured Soil during Dry–Wet Cycles: Role of Drying Duration and Flow Path Permeability. *Environ. Sci. Technol.* 49, 9100–9106. doi:10.1021/acs.est.5b00889
- Molenat, J., Gascuel-Oudou, C., Ruiz, L., Gruau, G., 2008. Role of water table dynamics on stream nitrate export and concentration in agricultural headwater catchment (France). *J. Hydrol.* 348, 363–378. doi:10.1016/j.jhydrol.2007.10.005
- Morel, B., Durand, P., Jaffrezic, A., Gruau, G., Molenat, J., 2009. Sources of dissolved organic carbon during stormflow in a headwater agricultural catchment. *Hydrol. Process.* 23, 2888–2901. doi:10.1002/hyp.7379
- Nakagawa-izumi, A., Kuroda, K., Ozawa, T., 2004. Thermochemolytic behavior of β - β lignin structures in the presence of tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* 35, 763–774. doi:10.1016/j.orggeochem.2004.01.020
- Neale, P.A., Antony, A., Gernjak, W., Leslie, G., Escher, B.I., 2011. Natural versus wastewater derived dissolved organic carbon: Implications for the environmental fate of organic micropollutants. *Water Res.* doi:10.1016/j.watres.2011.05.038
- Neff, J.C., Asner, G.P., 2001. Dissolved Organic Carbon in Terrestrial Ecosystems: Synthesis and a Model. *Ecosystems* 4, 29–48. doi:10.1007/s100210000058
- Nguyen, H.V.-M., Hur, J., 2011. Tracing the sources of refractory dissolved organic matter in a large artificial lake using multiple analytical tools. *Chemosphere* 85, 782–789. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.06.068
- Niedermeier, A., Robinson, J.S., 2007. Hydrological controls on soil redox dynamics in a peat-based, restored wetland. *Geoderma* 137, 318–326. doi:10.1016/j.geoderma.2006.08.027
- Nierop, K.G.J., Filley, T.R., 2008. Simultaneous analysis of tannin and lignin signatures in soils by thermally assisted hydrolysis and methylation using ^{13}C -labeled TMAH. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 83, 227–231. doi:10.1016/j.jaap.2008.07.004
- Nierop, K.G.J., Preston, C.M., Kaal, J., 2005. Thermally assisted hydrolysis and methylation of purified tannins from plants. *Anal. Chem.* 77, 5604–5614. doi:10.1021/ac050564r
- Nierop, K.G.J., Verstraten, J.M., 2004. Rapid molecular assessment of the bioturbation extent in sandy soil horizons under pine using ester-bound lipids by on-line thermally assisted hydrolysis and methylation-gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 1081–1088. doi:10.1002/rcm.1449
- Nimptsch, J., Woelfl, S., Kronvang, B., Giesecke, R., González, H.E., Caputo, L., Gelbrecht, J., von Tuempling, W., Graeber, D., 2014. Does filter type and pore size influence spectroscopic analysis of freshwater chromophoric DOM composition? *Limnol. - Ecol. Manag. Inland Waters* 48, 57–64. doi:10.1016/j.limno.2014.06.003
- Nippgen, F., McGlynn, B.L., Emanuel, R.E., 2015. The spatial and temporal evolution of contributing areas. *Water Resour. Res.* 51, 4550–4573. doi:10.1002/2014WR016719
- Oades, J.M., 1984. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil* 76, 319–337.

- Olivie-Lauquet, G., Gruau, G., Dia, A., Riou, C., Jaffrezic, A., Henin, O., 2001. Release of trace elements in wetlands: role of seasonal variability. *Water Res.* 35, 943–952.
- Opsahl, S., Benner, R., 1995. Early diagenesis of vascular plant tissues: Lignin and cutin decomposition and biogeochemical implications. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59, 4889–4904.
- Ouellet, J.-F., Lucotte, M., Teisserenc, R., Paquet, S., Canuel, R., 2009. Lignin biomarkers as tracers of mercury sources in lakes water column. *Biogeochemistry* 94, 123–140. doi:10.1007/s10533-009-9314-z
- Pacific, V.J., Jencso, K.G., McGlynn, B.L., 2010. Variable flushing mechanisms and landscape structure control stream DOC export during snowmelt in a set of nested catchments. *Biogeochemistry* 99, 193–211. doi:10.1007/s10533-009-9401-1
- Page, D.W., Van Leeuwen, J.A., Spark, K.M., Mulcahy, D.E., 2002. Pyrolysis characterisation of plant, humus and soil extracts from Australian catchments. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 65, 269–285.
- Peth, S., Beckmann, F., Donath, T., Fischer, J., Smucker, A.J.M., Horn, R., 2006. Pore space analysis of soil aggregates investigated by microtomography using synchrotron radiation. *HASYLAB Annu. Rep.*
- Pinto, M.I., Salgado, R., Cottrell, B.A., Cooper, W.J., Burrows, H.D., Vale, C., Sontag, G., Noronha, J.P., 2015. Influence of dissolved organic matter on the photodegradation and volatilization kinetics of chlorpyrifos in coastal waters. *J. Photochem. Photobiol. Chem.* 310, 189–196. doi:10.1016/j.jphotochem.2015.05.024
- Raymond, P.A., Saiers, J.E., 2010. Event controlled DOC export from forested watersheds. *Biogeochemistry* 100, 197–209. doi:10.1007/s10533-010-9416-7
- Réveill  , V., Mansuy, L., Jard  ,   ., Garnier-Sillam,   ., 2003. Characterisation of sewage sludge-derived organic matter: lipids and humic acids. *Org. Geochem.* 34, 615–627.
- Riedel, T., Zak, D., Biester, H., Dittmar, T., 2013. Iron traps terrestrially derived dissolved organic matter at redox interfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 10101–10105. doi:10.1073/pnas.1221487110
- Rosenberg, W., Nierop, K.G.J., Knicker, H., De Jager, P.A., Kreutzer, K., Weiss, T., 2003. Liming effects on the chemical composition of the organic surface layer of a mature Norway spruce stand (*Picea abies* [L.] Karst.). *Soil Biol. Biochem.* 35, 155–165.
- Rosenfeld, C.E., McCormack, M.L., Mart  nez, C.E., 2014. A novel approach to study composition of in situ produced root-derived dissolved organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 76, 1–4. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.026
- Roth, V.-N., Dittmar, T., Gaupp, R., Gleixner, G., 2014. Ecosystem-Specific Composition of Dissolved Organic Matter. *Vadose Zone J.* 13, 0. doi:10.2136/vzj2013.09.0162
- Rousk, J., Brookes, P.C., Baa th, E., 2010. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. *Soil Biol. Biochem.* 42, 516–520. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.026
- Rumpel, C., Dignac, M.-F., 2006. Gas chromatographic analysis of monosaccharides in a forest soil profile: Analysis by gas chromatography after trifluoroacetic acid hydrolysis and reduction–acetylation. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1478–1481. doi:10.1016/j.soilbio.2005.09.017

- Ryan, J.N., Illangasekare, T.H., Litaor, M.I., Shannon, R., 1998. Particle and plutonium mobilization in macroporous soils during rainfall simulations. *Environ. Sci. Technol.* 32, 476–482.
- Saiz-Jimenez, C., 1994. Analytical pyrolysis of humic substances: pitfalls, limitations, and possible solutions. *Environ. Sci. Technol.* 28, 1773–1780.
- Sanderman, J., Baldock, J.A., Amundson, R., 2008. Dissolved organic carbon chemistry and dynamics in contrasting forest and grassland soils. *Biogeochemistry* 89, 181–198. doi:10.1007/s10533-008-9211-x
- Sanderman, J., Lohse, K.A., Baldock, J.A., Amundson, R., 2009. Linking soils and streams: Sources and chemistry of dissolved organic matter in a small coastal watershed. *Water Resour. Res.* 45, n/a–n/a. doi:10.1029/2008WR006977
- Sarathy, V., Allen, H.E., 2005. Copper complexation by dissolved organic matter from surface water and wastewater effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61, 337–344. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.01.006
- Scalbert, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30, 3875–3883.
- Scheel, T., Haumaier, L., Ellerbrock, R.H., Rühlmann, J., Kalbitz, K., 2008. Properties of organic matter precipitated from acidic forest soil solutions. *Org. Geochem.* 39, 1439–1453. doi:10.1016/j.orggeochem.2008.06.007
- Schiff, S., Aravena, R., Mewhinney, E., Elgood, R., Warner, B., Dillon, P., Trumbore, S., 1998. Precambrian shield wetlands: hydrologic control of the sources and export of dissolved organic matter. *Clim. Change* 40, 167–188.
- Schlesinger, W.H., Andrews, J.A., 2000. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry* 48, 7–20.
- Schlesinger, W.H., Melack, J.M., 1981. Transport of organic carbon in the world's rivers. *Tellus* 33, 172–187. doi:10.3402/tellusa.v33i2.10706
- Schulten, H.-R., Gleixner, G., 1999. Analytical pyrolysis of humic substances and dissolved organic matter in aquatic systems: structure and origin. *Water Res.* 33, 2489–2498.
- Seibert, J., Grabs, T., Köhler, S., Laudon, H., Winterdahl, M., Bishop, K., 2009. Linking soil- and stream-water chemistry based on a Riparian Flow-Concentration Integration Model. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 13, 2287–2297.
- Seifert, A.-G., Roth, V.-N., Dittmar, T., Gleixner, G., Breuer, L., Houska, T., Marxsen, J., 2016. Comparing molecular composition of dissolved organic matter in soil and stream water: Influence of land use and chemical characteristics. *Sci. Total Environ.* 571, 142–152. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.07.033
- Shadkani, F., Helleur, R., 2010. Recent applications in analytical thermochemolysis. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 89, 2–16. doi:10.1016/j.jaap.2010.05.007
- Shang, J., Flury, M., Chen, G., Zhuang, J., 2008. Impact of flow rate, water content, and capillary forces on in situ colloid mobilization during infiltration in unsaturated sediments. *Water Resour. Res.* 44. doi:10.1029/2007WR006516
- Smucker, A.J.M., Park, E.-J., Dorner, J., Horn, R., 2007. Soil Micropore Development and Contributions to Soluble Carbon Transport within Macroaggregates. *Vadose Zone J.* 6, 282. doi:10.2136/vzj2007.0031

- Stumm, W., 1993. Aquatic colloids as chemical reactants: surface structure and reactivity. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 73, 1–18.
- Suresh Kumar, A., Mody, K., Jha, B., 2007. Bacterial exopolysaccharides – a perception. *J. Basic Microbiol.* 47, 103–117. doi:10.1002/jobm.200610203
- Tareq, S., Tanaka, N., Ohta, K., 2004. Biomarker signature in tropical wetland: lignin phenol vegetation index (LPVI) and its implications for reconstructing the paleoenvironment. *Sci. Total Environ.* 324, 91–103. doi:10.1016/j.scitotenv.2003.10.020
- Teisserenc, R., Lucotte, M., Houel, S., 2011. Terrestrial organic matter biomarkers as tracers of Hg sources in lake sediments. *Biogeochemistry* 103, 235–244.
- Tipping, E., 1981. The adsorption of aquatic humic substances by iron oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45, 191–199.
- Tipping, E., Chamberlain, P.M., Fröberg, M., Hanson, P.J., Jardine, P.M., 2012. Simulation of carbon cycling, including dissolved organic carbon transport, in forest soil locally enriched with ¹⁴C. *Biogeochemistry* 108, 91–107. doi:10.1007/s10533-011-9575-1
- Tolpekin, V.A., Duits, M.H.G., van den Ende, D., Mellema, J., 2004. Aggregation and Breakup of Colloidal Particle Aggregates in Shear Flow, Studied with Video Microscopy. *Langmuir* 20, 2614–2627. doi:10.1021/la035758l
- Toosi, E.R., Doane, T.A., Horwath, W.R., 2012. Abiotic solubilization of soil organic matter, a less-seen aspect of dissolved organic matter production. *Soil Biol. Biochem.* 50, 12–21. doi:10.1016/j.soilbio.2012.02.033
- Van Gaelen, N., Verheyen, D., Ronchi, B., Struyf, E., Govers, G., Vanderborght, J., Diels, J., 2014. Identifying the Transport Pathways of Dissolved Organic Carbon in Contrasting Catchments. *Vadose Zone J.* 13, 0. doi:10.2136/vzj2013.11.0199
- Verdugo, P., Alldredge, A.L., Azam, F., Kirchman, D.L., Passow, U., Santschi, P.H., 2004. The oceanic gel phase: a bridge in the DOM–POM continuum. *Mar. Chem.* 92, 67–85. doi:10.1016/j.marchem.2004.06.017
- Wagai, R., Mayer, L.M., 2007. Sorptive stabilization of organic matter in soils by hydrous iron oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 25–35. doi:10.1016/j.gca.2006.08.047
- Ward, N.D., Richey, J.E., Keil, R.G., 2012. Temporal variation in river nutrient and dissolved lignin phenol concentrations and the impact of storm events on nutrient loading to Hood Canal, Washington, USA. *Biogeochemistry* 111, 629–645. doi:10.1007/s10533-012-9700-9
- 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. doi:10.1021/es030360x
- Wolthers, W., 1996. The viscosity and sedimentation of aggregating colloidal dispersions in a Couette flow. *J. Rheol.* 40, 55–67. doi:10.1122/1.550784
- Worrall, F., Gibson, H.S., Burt, T.P., 2008. Production vs. solubility in controlling runoff of DOC from peat soils? The use of an event analysis. *J. Hydrol.* 358, 84–95. doi:10.1016/j.jhydrol.2008.05.037
- Xue, D., Yao, H.-Y., Ge, D.-Y., Huang, C.-Y., 2008. Soil microbial community structure in

- diverse land use systems: a comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. *Pedosphere* 18, 653–663.
- Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biol. Fertil. Soils* 29, 111–129.
- Zelles, L., Bai, Q.Y., Beck, T., Beese, F., 1992. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 24, 317–323.
- Zhang, W., Tang, X.-Y., Xian, Q.-S., Weisbrod, N., Yang, J.E., Wang, H.-L., 2016. A field study of colloid transport in surface and subsurface flows. *J. Hydrol.* 542, 101–114. doi:10.1016/j.jhydrol.2016.08.056
- Zhang, Y.-L., Lin, S.-S., Dai, C.-M., Shi, L., Zhou, X.-F., 2014. Sorption–desorption and transport of trimethoprim and sulfonamide antibiotics in agricultural soil: effect of soil type, dissolved organic matter, and pH. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 5827–5835. doi:10.1007/s11356-014-2493-8
- Zhao, P., Zhao, P., Liang, C., Li, T., Zhou, B., 2017. Understanding the rapidity of subsurface storm flow response from a fracture-oriented shallow vadose through a new perspective. *J. Hydrol.* 544, 628–639. doi:10.1016/j.jhydrol.2016.12.007
- Zhuang, J., McCarthy, J.F., Tyner, J.S., Perfect, E., Flury, M., 2007. In Situ Colloid Mobilization in Hanford Sediments under Unsaturated Transient Flow Conditions: Effect of Irrigation Pattern. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3199–3204. doi:10.1021/es062757h
- Zogg, G.P., Zak, D., Ringelberg, D.B., MacDonald, N.W., Pregitzer, K.S., White, D.C., 1997. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 475–481.
- Zsolnay, Á., 2003. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113, 187–209. doi:10.1016/S0016-7061(02)00361-0

