

Université du Québec
Centre - INRS - Institut Armand-Frappier

Étude du cycle biogéochimique du dihydrogène et du mercure en utilisant une approche
intégrée

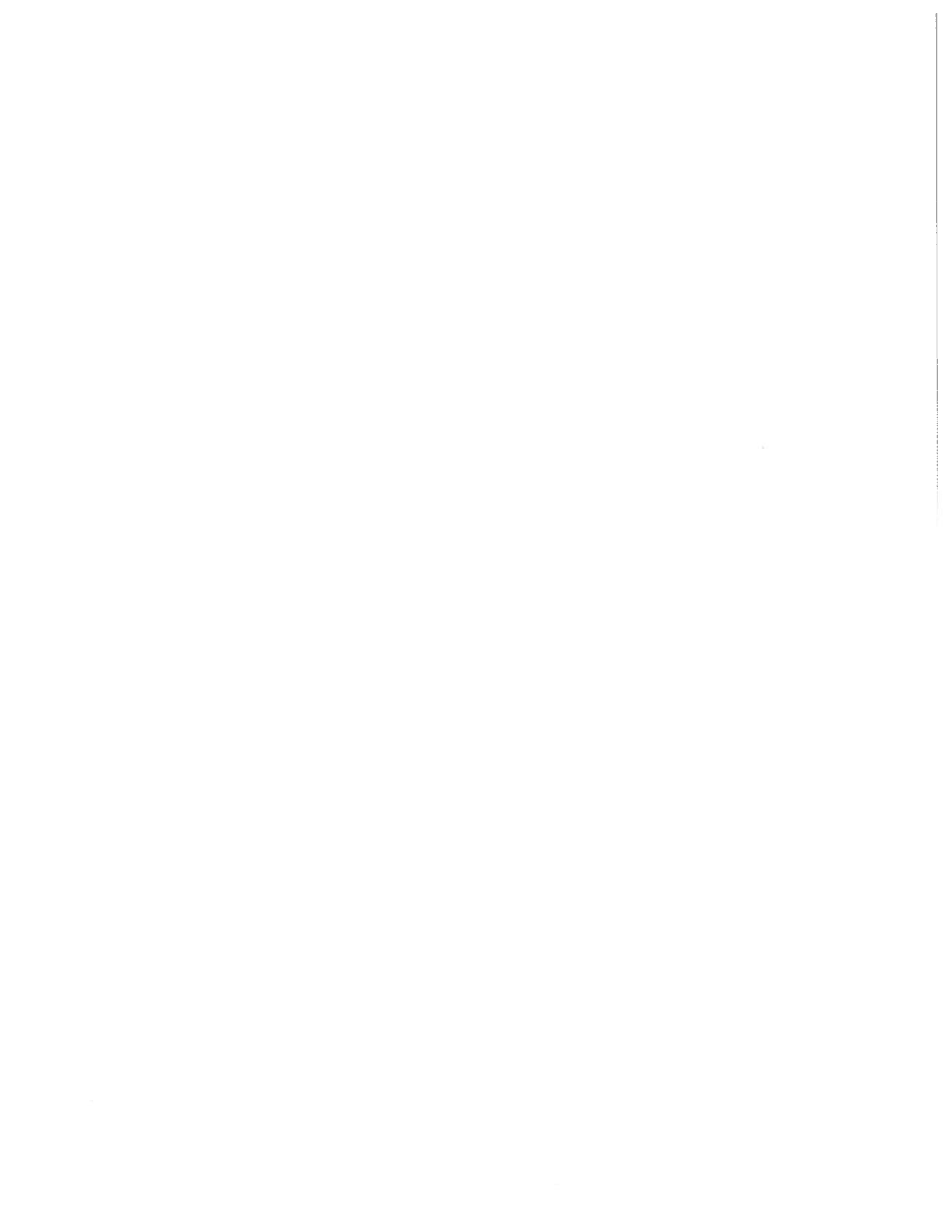
Par
Philippe Constant

Thèse présentée pour l'obtention
du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.) en biologie

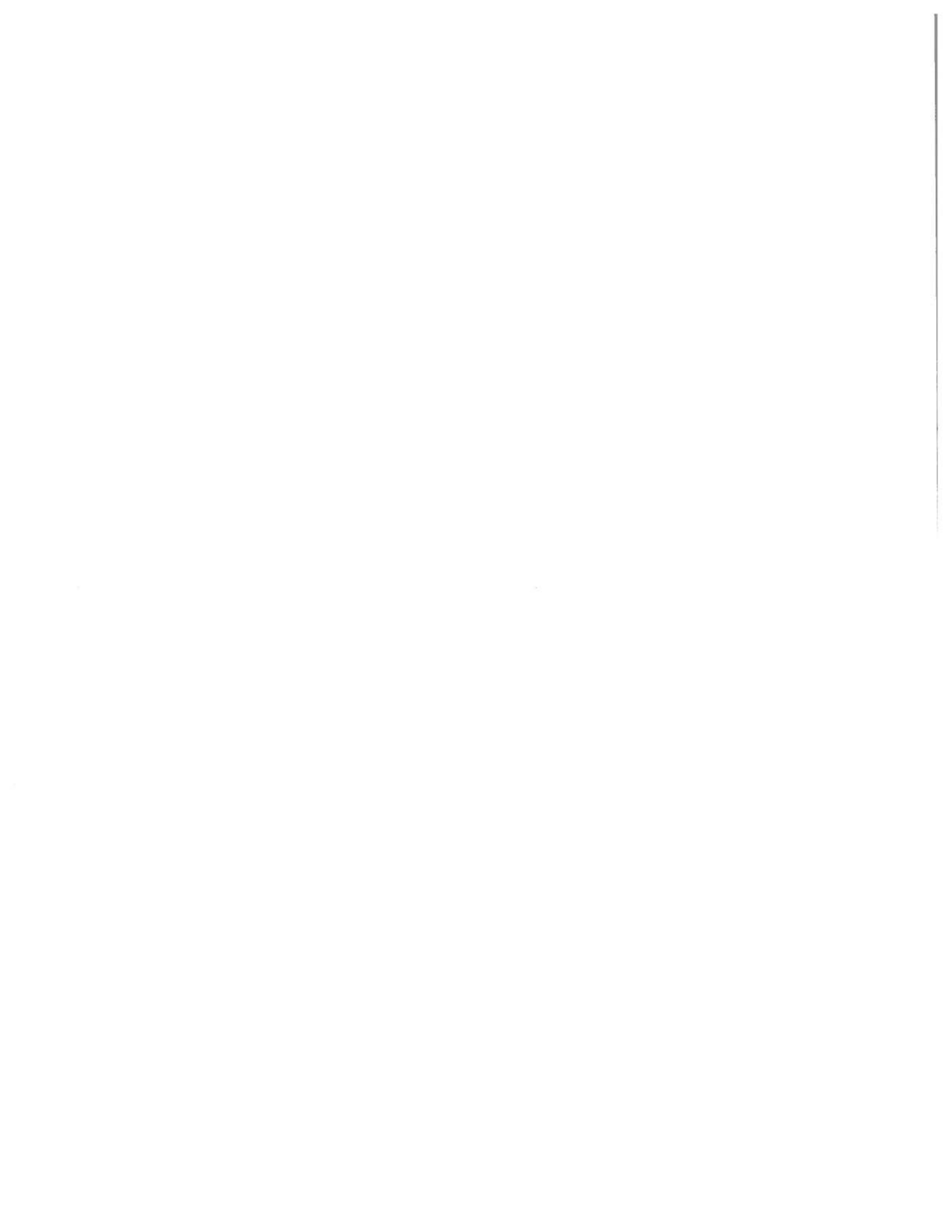
Jury d'évaluation

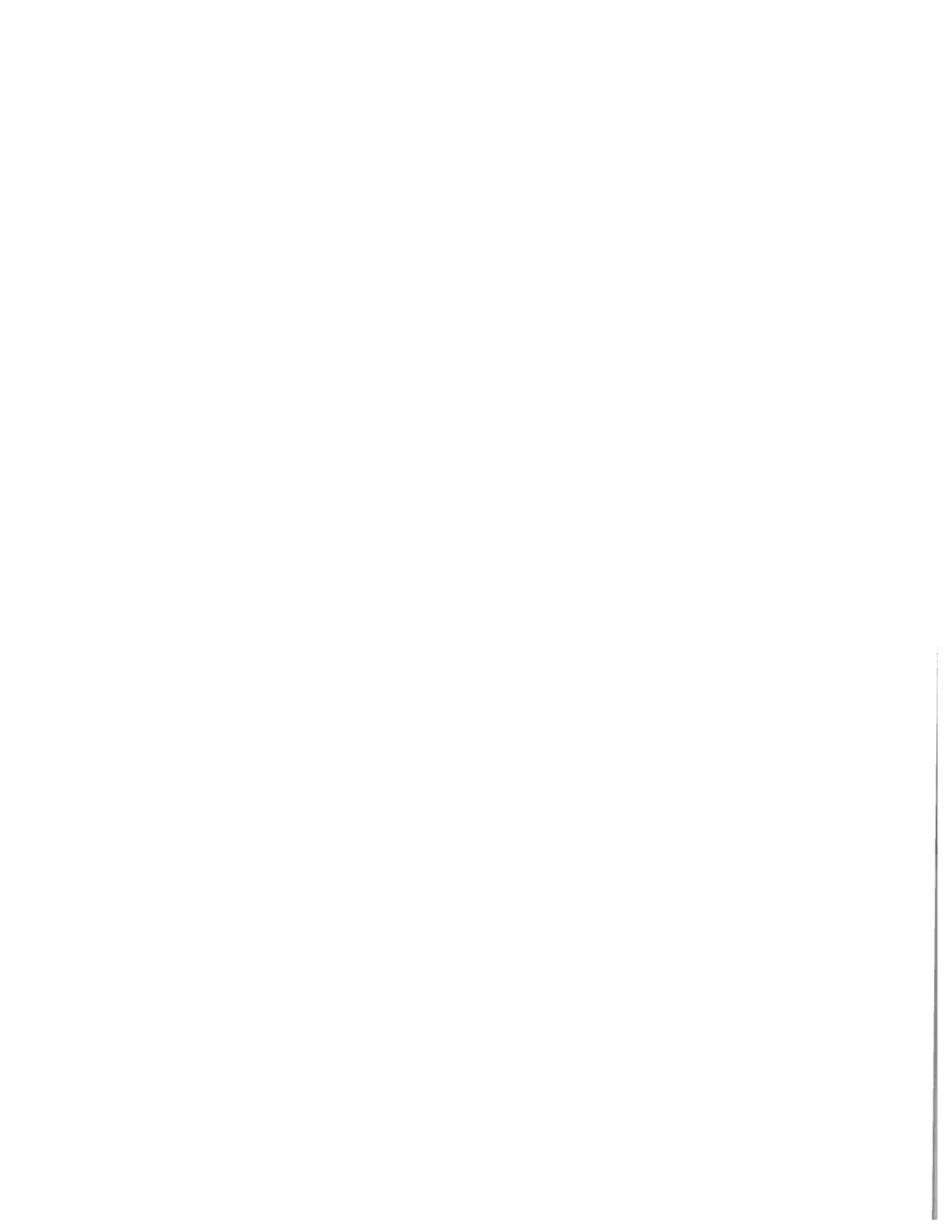
Président du jury et examinateur interne :	Rolf Morosoli Ph.D. Centre INRS-Institut Armand-Frappier
Examinatrice externe :	Danielle Fortin (Ph.D.) Université d'Ottawa
Examineur externe :	Patrick Hallenbeck (Ph.D.) Université de Montréal
Directeur de recherche :	Richard Villemur (Ph.D.) Centre INRS-Institut Armand-Frappier
Codirecteur de recherche :	Laurier Poissant (Ph.D.) Environnement Canada/Université d'Ottawa

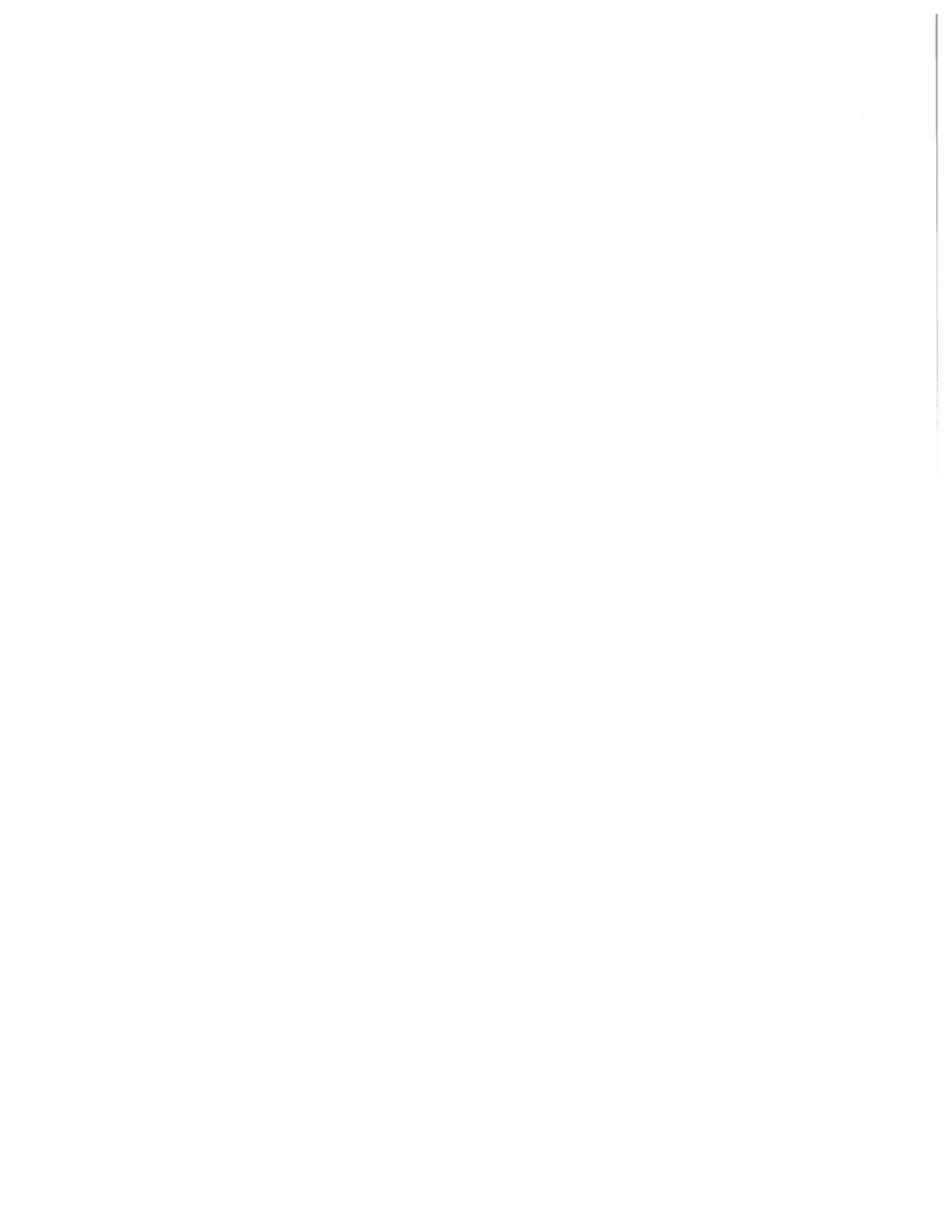
© Droits réservés de Philippe Constant, 2008



*À mes parents et
à mes grands-parents.*







RÉSUMÉ

Les interactions complexes entre le climat et les systèmes biogéochimiques pourraient amplifier ou atténuer les déséquilibres engendrés par l'activité anthropique. C'est dans cette optique qu'un programme de recherche a été entrepris pour étudier les dépôts secs du dihydrogène (H_2) et déterminer les sources potentielles ainsi que la stabilité du méthyle mercure (MeHg) détecté dans la neige subarctique. Ces deux processus ont été sélectionnés non seulement en raison de leur importance dans le cycle biogéochimique du H_2 et du mercure (Hg), mais aussi à cause de leur susceptibilité au changement global. Les résultats obtenus au cours de ce programme de recherche ont été analysés en utilisant une approche intégrée, permettant ainsi d'identifier leurs interrelations et de prédire l'impact du changement global sur les réactions étudiées.

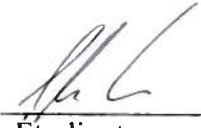
Environ 80% des pertes du H_2 troposphérique sont causées par son dépôt sec. La résolution spatiotemporelle des dépôts secs du H_2 est présentement limitée par quatre études réalisées en Eurasie et les modèles actuels ne permettent pas de reproduire la distribution des concentrations de H_2 troposphérique. Les concentrations de H_2 modélisées sont supérieures à celles qui sont détectées *in situ*, particulièrement dans la région de l'hémisphère nord. Cette différence fut attribuée à une sous-estimation de la vitesse de dépôt sec du H_2 , un paramètre dont la variation est extrapolée à partir des travaux réalisés en Eurasie. Sachant que le H_2 est perçu comme la source d'énergie du futur et qu'il est un gaz à effet de serre indirect impliqué dans les réactions contrôlant la capacité oxydative de la troposphère, il devient important d'identifier les paramètres environnementaux modulant son dépôt sec. Les pertes de H_2 au sol seraient dues à l'activité d'hydrogénases à forte affinité pour le H_2 , mais aucun micro-organisme démontrant cette activité métabolique n'a encore été isolé. L'objectif de cette portion du programme de recherche était donc de caractériser les dépôts secs du H_2 de l'échelle écosystémique à l'échelle microbiologique. Tout d'abord, l'établissement d'un bilan annuel des flux micrométéorologiques du H_2 a été entrepris dans une région rurale. Le site représentait un puits de H_2 , avec une vitesse de dépôt sec moyenne de $0,15 \text{ cm s}^{-1}$, une valeur qui se situe à la limite supérieure de celles rapportées en Eurasie. Le dépôt sec du H_2 était optimal lorsque le sol était sec et que sa température était supérieure à 10°C .

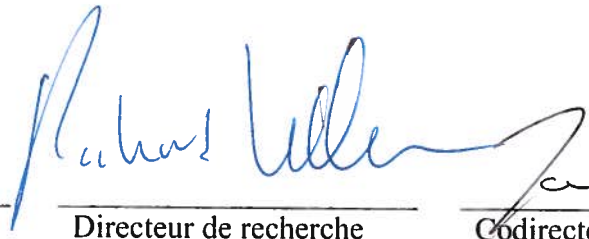
Après avoir établi le bilan des échanges surface-air du H₂, des expériences ont été réalisées en laboratoire afin d'identifier des micro-organismes pouvant être responsables de la consommation du H₂ observée. Une approche originale, la chambre à microcosme dynamique (DMC), a permis d'établir une corrélation entre la maturation de l'activité de consommation du H₂ et l'évolution de la population microbienne colonisant un sol stérile. L'efficacité de cette stratégie fut démontrée par l'isolement de *Streptomyces* sp. PCB7, le premier micro-organisme ayant une forte affinité pour le H₂ troposphérique. La consommation du H₂ serait un métabolisme secondaire de la souche PCB7, impliquant des hydrogénases de type NiFe à forte affinité pour le H₂ (K_m apparent de 11 ppmv). La souche PCB7 pourrait devenir un micro-organisme modèle pour étudier l'activité de consommation du H₂ troposphérique en purifiant et en caractérisant ses hydrogénases.

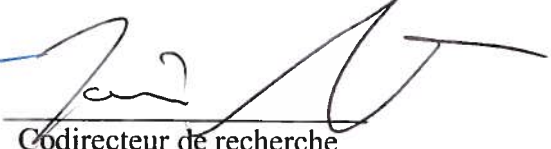
Pour sa part, le Hg est un métal qui se retrouve naturellement dans la croûte terrestre. En exploitant des ressources naturelles pour générer de l'énergie, des quantités importantes de Hg sont transférées vers l'atmosphère. Ce sont ensuite les réactions d'oxydoréduction qui déterminent la compartimentation du Hg, où les formes volatiles demeurent dans l'atmosphère alors que les formes réactives se déposent sur les surfaces humides. Des micro-organismes et/ou des réactions chimiques impliquant entre autres les acides humiques peuvent ensuite transformer le Hg déposé en MeHg, une neurotoxine bioaccumulable. Des travaux récents ont démontré que l'eau de la fonte des neiges représente une source importante de MeHg pour les écosystèmes arctiques. Le rôle exact de ce MeHg dans la contamination du biota arctique demeure néanmoins obscur et les réactions responsables de sa production sont encore inconnues. Puisque les événements de lessivage du mercure atmosphérique (ELMA) sont associés à un dépôt du Hg atmosphérique qui se retrouve alors sous forme biodisponible dans la neige, des micro-organismes ou des réactions abiotiques pourraient transformer le Hg déposé en MeHg. Une étude a donc été réalisée pour déterminer l'impact des ELMA printaniers sur les concentrations de MeHg du manteau neigeux d'un écosystème subarctique. Deux sources de MeHg ont été identifiées : (1) le dépôt des aérosols marins et (2) une production *in situ* lors de la fonte des neiges. Alors que le MeHg issu des aérosols marins était instable suivant son dépôt atmosphérique, le MeHg détecté lors de la fonte des neiges était persistant et ses concentrations étaient corrélées avec celles des solides totaux, des solides

totaux volatils ainsi qu'avec les dénombrements de bactéries hétérotrophes cultivables. Les sites localisés en périphérie de parcelles d'arbres et d'arbustes étaient donc ceux où les concentrations de MeHg étaient les plus élevées, mais les données disponibles ne permettent pas de confirmer la nature biologique ou abiotique du MeHg détecté.

L'utilisation d'une approche intégrée a permis d'élaborer des scénarios envisageables concernant l'impact du changement global de la biosphère sur le cycle biogéochimique du H₂ et du Hg. Puisque les écosystèmes arctique et subarctique sont ceux qui subiront la plus forte influence du réchauffement global, ils ont servi de modèle pour l'établissement des scénarios. L'analyse des résultats obtenus démontre qu'il est raisonnable d'anticiper que la variance des dépôts secs du H₂ troposphérique ainsi que les décharges printanières du MeHg via l'eau de la fonte des neiges augmentent en réponse au changement global.


Étudiant


Directeur de recherche


Codirecteur de recherche

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mes deux directeurs de recherche, Richard Villemur (Ph.D.) et Laurier Poissant (Ph.D.), qui m'ont accueilli dans leur laboratoire pour mes études graduées. Ils m'ont permis d'évoluer dans une atmosphère de travail des plus stimulantes et les connaissances qu'ils m'ont transmises au cours de leur mentorat surpassent le domaine du laboratoire. Ils ont contribué à améliorer mes aptitudes à la communication et à la conception d'hypothèses de travail ciblées ; deux vertus qui me seront essentielles tout au long de ma carrière de chercheur. Merci Richard pour ta grande disponibilité et tes conseils judicieux, autant du côté laboratoire que lors de la rédaction. Merci Laurier pour ta grande disponibilité, tes conseils et pour m'avoir intégré dans le réseau ArcticNet, les conférences internationales et les campagnes de terrain.

Je me dois de remercier tous les membres du Groupe de Recherche en Microbiologie de l'Environnement, professeurs-chercheurs, personnel de recherche et étudiants qui ont contribué à rendre mon séjour à l'INRS Institut Armand-Frappier aussi enrichissant. En particulier, les étudiants du laboratoire de Richard Villemur avec qui j'ai partagé mon quotidien : Normand Labbé, Véronique Laurin, Isabelle Lafortune, Sébastien Bigras, Julie Auclair, Randa Kortbaoui et Julie Disnard. Merci aussi à Rolf Morosoli (Ph.D.), François Shareck (Ph.D.), Marie-Christine Groleau et Johanne Lemay pour leur aide précieuse lors de mes travaux avec les streptomycètes. Je remercie aussi Conrad Beauvais et Martin Pilote du laboratoire de Laurier Poissant pour leur support. Merci Conrad pour tes macro Excel !

Ma famille a également eu un rôle important au cours de mes études graduées. Je tiens à remercier mes parents pour leur appui inconditionnel. Merci de continuer à croire en moi. Les valeurs que vous m'avez transmises sont à la base de mes accomplissements et je vous en serai éternellement reconnaissant. Merci à Valérie, mon rayon de bonheur, pour ton soutien, ta patience et ta compréhension.

Finalement, je remercie le Fonds Québécois de Recherche sur la Nature et les Technologies, la Fondation Armand-Frappier et Environnement Canada pour leur contribution financière.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	V
REMERCIEMENTS.....	VIII
TABLE DES MATIÈRES	X
LISTE DES FIGURES.....	XIV
LISTE DES TABLEAUX	XVI
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XVIII
GLOSSAIRE.....	XXI
1 INTRODUCTION.....	1
1.1 La mise en contexte.....	1
1.2 Le dépôt sec du H ₂	3
1.3 La présence de MeHg dans la neige d'un écosystème subarctique.....	7
1.4. Interprétation des résultats en utilisant une approche intégrée	11
1.5 Présentation du document	11
PARTIE I: LE DÉPÔT SEC DU H₂.....	13
2 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 1.....	14
2.1 Mise en contexte de l'article 1	14
2.3 Article 1: Tropospheric H ₂ Cycling Under the Changing Environment	15
2.4 Résumé	16
2.5 Abstract	17
2.6 Introduction	18
2.7 Biogeochemical cycle of atmospheric H ₂	20
2.8 Sources of atmospheric H ₂	24
2.8.1 Methane and non methane hydrocarbons oxidation (NMHC).....	24
2.8.2 Industries and fossil fuels	25
2.8.3 Biomass burning.....	26
2.8.4 Nitrogen fixation by-products	26
2.8.5 Oceans	27
2.9 H ₂ sinks of atmospheric H ₂	28
2.9.1 Oxidation by hydroxyl radicals	28
2.9.2 Microbial soil uptake	30
2.10 H ₂ concentrations in the environment	31
2.10.1 H ₂ in the atmosphere	31
2.10.2 H ₂ in aquatic environments	32
2.11 Microbial soil uptake: a limitation of the H ₂ distribution models.....	34
2.11.1 Deposition of H ₂ measured in the environment	35
2.11.2 Environmental factors influencing the H ₂ exchanges	37
2.11.2.1 Soil water content.....	37

2.11.2.2 Soil temperature	37
2.11.2.3 Soil pH	38
2.11.2.4 Soil organic content	39
2.12. Microbial utilization and production of H ₂	39
2.12.1 Affinity for H ₂	40
2.12.2 <i>Streptomyces</i> sp. PCB7: a model microorganism	42
2.13 Impacts of a future H ₂ -based economy on the oxidative capacity of the troposphere	44
2.14 Future researches	46
2.14.1 Assessing the impact of climate and land-use change	46
2.14.2 Identification of microorganisms having a high affinity for H ₂	49
2.15 Concluding remarks	50
2.16 Acknowledgements	51
3 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 2	52
3.1 Mise en contexte de l'article 2	52
3.2 Contribution de l'étudiant à l'article 2	53
3.3 Article 2: Annual Hydrogen, carbon monoxide and carbon dioxide concentrations and surface to air exchanges in a rural area (Québec, Canada)	54
3.4 Résumé	55
3.5 Abstract	57
3.6 Introduction	58
3.7 Experimental	59
3.7.1 Site description	59
3.7.2 Micrometeorology: Modified Bowen Ratio approach	60
3.7.3 Trace gas analyzers	63
3.7.4 Correction of the fluxes	64
3.7.5 Quality control	64
3.7.6 Statistical analyses	64
3.8 Results and discussion	65
3.8.1 Urban influence on H ₂ and CO concentrations measured at St. Anicet	65
3.8.2 Soil temperature: a key determinant for trace gas exchanges	65
3.8.3 Diurnal cycle of trace gas exchanges	73
3.9 Conclusion	78
3.10 Acknowledgments	78
4 PRESENTATION DE L'ARTICLE 3	80
4.1 Mise en contexte de l'article 3	80
4.2 Contribution de l'étudiant à l'article 3	80
4.3 Article 3: Isolation of <i>Streptomyces</i> sp. PCB7, the first microorganism demonstrating high-affinity uptake of tropospheric H ₂	82
4.4 Résumé	83
4.5 Abstract	85
4.6 Introduction	85
4.7 Materials and methods	87
4.7.1 Dynamic Microcosm Chamber	87

4.7.2 Trace gas analyzer	88
4.7.3 Soil preparation.....	89
4.7.4 Isolation of bacteria and fungi and analysis of their H ₂ uptake activity.....	91
4.7.5 DNA extraction.....	92
4.7.6 PCR	93
4.7.7 Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE).....	93
4.7.8 Testing the affinity of strain PCB7 for H ₂	94
4.7.9 NiCl ₂ assays.....	94
4.8 Results	95
4.8.1 Enrichment of a consortium having a high affinity toward H ₂	95
4.8.2 Isolation of bacteria and fungi from the DMC.....	95
4.8.3 Characterization of the H ₂ consumption by strain PCB7	104
4.9 Discussion	104
4.10 Acknowledgements	109
PARTIE II: LE MEHG DANS LE MANTEAU NEIGEUX SUBARCTIQUE	110
5 REVUE DE LITTÉRATURE DU MERCURE.....	111
5.1 La spéciation et la toxicité du Hg.....	111
5.2 Les sources du Hg détecté dans l'environnement	113
5.3 Les transformations du Hg dans l'environnement	114
5.3.1 Le Hg dans l'atmosphère	114
5.3.1.1 Le Hg inorganique.....	116
5.3.1.2 Le Hg organique.....	117
5.3.2 Le Hg dans l'eau et les sédiments	118
5.3.2.1 Les réactions d'oxydoréduction du Hg inorganique	118
5.3.2.2 La méthylation du Hg.....	120
5.3.2.3 La déméthylation du MeHg.....	122
5.4 Le Hg dans l'Arctique	123
5.4.1. La contamination de l'Arctique et son origine anthropique	123
5.4.1.1 Quelle est la voie empruntée par le Hg ?	124
5.4.2 Les événements de lessivage du Hg atmosphérique.....	124
5.4.2.1 Impact des ELMA sur le Hg dans le manteau neigeux.....	127
5.4.2.2 Le destin du Hg déposé dans le manteau neigeux.....	128
5.4.2.3. Impact des ELMA sur le MeHg dans le manteau neigeux.....	129
5.4.3. La microbiogéochimie du mercure dans la glace et dans le manteau neigeux	130
5.5 La réactivité du manteau neigeux subarctique dans une perspective de l'évolution du climat.....	131
6 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 4.....	133
6.1 Mise en contexte de l'article 4	133
6.2 Contribution de l'étudiant à l'article 4	133
6.3 Article 4: The Fate of inorganic Mercury and Methyl Mercury within the snow	

cover in the low arctic tundra on the shore of Hudson Bay (Québec, Canada).....	134
6.4 Résumé.....	135
6.5 Abstract.....	138
6.6 Introduction.....	138
6.7 Experimental section.....	140
6.7.1 <i>Site description and sample collection</i>	140
6.7.2 <i>Snow total mercury analyses</i>	142
6.7.3 <i>Snow methyl mercury analyses</i>	142
6.7.4 <i>Snow sulfates and chlorines analyses</i>	143
6.7.5 <i>Bacteria enumeration</i>	143
6.7.6 <i>Total suspended solids and total volatile suspended solids</i>	143
6.7.5 <i>TGM and O₃ measurements in air</i>	144
6.8 Results and discussion	144
6.8.1. <i>Hg fate in the snow cover: the incidence of AMDEs</i>	144
6.8.1.1. A link between atmospheric and snow processes	145
6.8.1.2. Diurnal cycle of MeHg	150
6.8.1.3 MeHg and THg spatial distribution	151
6.8.2. <i>Hg fate in the snow cover: the snow melting period</i>	152
6.8.2.1. An indication for a MeHg production within the snow pack?.....	155
6.9 Perspectives.....	158
6.10 Acknowledgements.....	159
6.11 Supplementary material 1: Estimation of MeHg deposition.....	160
6.12 Supplementary material 2: Potential for MeHg demethylation activity: a case study	161
6.13 Supplementary material 3: Microbial biomass, particle contents and MeHg snow concentrations	162
7 DISCUSSION	164
7.1 Le dépôt sec du H ₂	164
7.2 Le MeHg dans le manteau neigeux subarctique	167
7.3 Intégration des résultats dans une perspective du changement global.....	169
7.3.1 <i>Le changement global du point de vue des écosystèmes arctique et subarctique</i>	169
7.3.2 <i>Impact du réchauffement global sur la microbiogéochimie du H₂ et du Hg</i> ..	171
8 CONCLUSION	176
LISTE DES RÉFÉRENCES	177

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Tendence des concentrations du CO ₂ atmosphérique mesurées à Mauna Loa (Hawaii) depuis 1958.	2
Figure 1.2. Photographie de l'instrumentation opérée à St-Anicet pour établir le bilan annuel des flux de H ₂	5
Figure 1.3. Photographies du site où les travaux portant sur la microbiogéochimie du Hg ont été entrepris.	10
Figure 1.4. Schématisation de la structure du programme de recherche.....	12
Figure 2.1. Overview of photochemical reactions involving the oxidants O ₃ , OH [·] and H ₂ O ₂ and some biogenic trace gases in the troposphere.	19
Figure 2.2. Diagram of the H ₂ biogeochemical cycle.	23
Figure 2.3. Box diagrams of the (A) CO ₂ and (B) H ₂ micrometeorological fluxes measured during the summer in a temperate grassland.....	48
Figure 3.1. Map showing the location of St. Anicet (Québec, Canada) and the topography of the landscape surrounding the micrometeorological station.....	61
Figure 3.2. Pollution roses for (A) H ₂ and (B) CO concentrations as well as (C) wind rose measured at St. Anicet during the entire field campaign.	67
Figure 3.3. Box diagrams of the hourly median of (A) Eddy Diffusivity coefficients, (B) H ₂ concentration ratio ($[H_2]_{\text{lower level}}/[H_2]_{\text{upper level}}$) and (C) CO concentration ratios ($[CO]_{\text{lower level}}/[CO]_{\text{upper level}}$) measured at St. Anicet over the entire field campaign.	68
Figure 3.4. Time series for (A) H ₂ , (B) and (C) CO ₂ fluxes and soil temperature measured at St. Anicet.	70
Figure 3.5. Diurnal cycle of median H ₂ , CO ₂ , H ₂ O fluxes and soil temperature measured when soil temperature was (A) $20 > T^{\circ} \geq 10^{\circ}\text{C}$, (B) $10 > T^{\circ} \geq 0^{\circ}\text{C}$ and (C) $0 > T^{\circ} \geq -10^{\circ}\text{C}$	74
Figure 3.6. Diurnal cycle of median CO, CO ₂ , H ₂ O fluxes and soil temperature measured when soil temperature was (A) $20 > T^{\circ} \geq 10^{\circ}\text{C}$, (B) $10 > T^{\circ} \geq 0^{\circ}\text{C}$ and (C) $0 > T^{\circ} \geq -10^{\circ}\text{C}$	76
Figure 4.1. Diagram of the DMC used to measure the real time H ₂ and CO ₂ N.E. rates of	

heat sterilized soils during their colonization by microbial soil extracts.....	90
Figure 4.2. Simultaneous monitoring of H ₂ and CO ₂ N.E. and microbial population dynamics.	98
Figure 4.3. Visual observation of the soil acting as net sink for H ₂ and the developmental stage of <i>Streptomyces</i> sp. PCB7.....	100
Figure 4.4. Kinetic of the H ₂ consumption activity of strain PCB7.....	102
Figure 5.1. Profil typique de l'accumulation du Hg _I (A) et du MeHg (B) dans les réseaux trophiques lacustres (à partir des données de Watras et al. [1998]).....	113
Figure 5.2. Schématisation du cycle du Hg dans l'environnement.....	115
Figure 5.3. Schématisation des mécanismes de résistance au Hg des bactéries conférés par l'opéron <i>mer</i>	119
Figure 5.4. Schématisation du cycle biogéochimique du Hg lors des ELMA ayant lieu dans les régions polaires.	126
Figure 5.5. Détection du BrO avec le satellite GOME au dessus (A) de l'Arctique et (B) de l'Antarctique.	127
Figure 6.1. Map showing the location of Whapmagoostui-Kuujuarapik (Québec, Canada) as well as the different sampling stations.	141
Figure 6.2. Time series for (A) TGM and O ₃ air concentrations and (B) THg snow concentrations measured from 2004 March 12 th to 19 th at the CEN.....	147
Figure 6.3. NOAA 24 hours backward trajectories ending at the CEN (A) at 0h00 UTC on March 16 th : <i>AMDE_B</i> and (B) at 0h00 UTC on March 13 th : <i>AMDE_A</i>	148
Figure 6.4. Time series for MeHg snow concentrations measured from 2004 March 12 th to 19 th at the CEN.....	149
Figure 6.5. MeHg and THg snow concentrations from snow samples collected at three different sites on 2004 March 16 th along a North-South transects.....	153
Figure 6.6. Time series for MeHg and THg concentrations measured in snow cover at the CEN station in 2005.....	155
Figure 7.3. Suivi des concentrations de H ₂ troposphérique à Alert, Canada.	173

LISTE DES TABLEAUX

Table 2.1. Estimation of the inter-annual atmospheric H ₂ concentration fluctuations by using long term monitoring stations.....	20
Table 2.2. Isotopic composition and kinetic isotopic effect (KIE) for H ₂ sources and sinks.....	22
Table 2.3. H ₂ dry deposition velocities (D _v) measured in different ecosystems by using flux chamber and micrometeorological methods.	35
Table 2.4. H ₂ affinity of microorganisms catalyzing the H ₂ oxidation under aerobic conditions.	43
Table 2.5. H ₂ affinity of microorganisms catalyzing the H ₂ oxidation under anoxic and anaerobic conditions.....	44
Table 3.1. Comparison of H ₂ and CO deposition velocities (D _v) derived at St. Anicet with values reported by other investigators.....	69
Table 3.2. Average of H ₂ , CO and CO ₂ concentrations and fluxes measured at St. Anicet under three soil temperature intervals. Standard deviations are given in parenthesis.....	72
Table 4.1. H ₂ consumption activity of the cultivable bacteria and fungi.	97
Table 4.2. Summary of known H ₂ affinity and threshold of microorganisms or environmental conditions for H ₂ uptake.....	106
Tableau 5.1. Concentration typique des différentes formes de Hg retrouvées dans l'atmosphère de régions éloignées des centres urbains.....	116
Table 6.1. Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , MeHg and THg snow concentrations for samples collected on 2004 March 17 th and 18 th at the CEN station.	150
Table 6.2. Physical, chemical and microbiological properties of the snow collected in April 2005, at the three different sampling sites.	154
Table 6.3. Pearson correlation coefficients obtained between MeHg snow concentrations with TSS, TVSS and HPC for snow samples collected at BH, RIV and CEN stations in April 2005.	156
Table 6.4. MeHg, THg, TVSS snow concentrations, %MeHg and HPC for snow samples collected before on April 12 th and April 26 th 2005 at two different depths at the	

CEN station.....	158
Table 6.5. MeHg snow concentrations detected in snow samples collected near the CEN.	160
Table 6.5. THg MeHg snow concentrations detected in snow samples collected near the CEN.....	161
Tableau 7.1. Dépôt sec et point de compensation du H ₂ dérivés en utilisant la technique de la chambre à flux statique déployée à Whapmagoostui-Kuujuarapik.....	172

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- α_{OH} : Facteur de fractionnement isotopique du H₂ lors de son oxydation par les OH[·]
- α_{soil} : Facteur de fractionnement isotopique du H₂ lors de son dépôt sec
- Br[·] : Atome de brome réactif
- BrO : Oxyde de brome
- BRS : Bactéries réductrices des sulfates (SRB en anglais)
- CH₄ : Méthane
- Cl[·] : Atome de chlore réactif
- CO : Monoxyde de carbone
- CO₂ : Dioxyde de carbone
- COD : Carbone organique dissous
- DGGE : Gel d'électrophorèse à gradient de dénaturant
- DH : Dihydrogène deutéré
- D/H (δD) : Rapport isotopique deutérium/protium du H₂ par rapport à celui d'un échantillon de référence
- DMC : Chambre à microcosme dynamique
- ELMA : Événement de lessivage du mercure atmosphérique (AMDE en anglais)
- ELOA : Événement de lessivage de l'ozone atmosphérique (ODE en anglais)
- DGGE : Gel d'électrophorèse à gradient de dénaturant
- DGM : Mercure gazeux dissous (inorganique ou organique)
- Dv : Vitesse du dépôt sec
- FID : Détecteur à ionisation de flamme
- GEM : Mercure élémentaire gazeux (Hg⁰_(g))
- GIEC : Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat
- HCHO : Formaldéhyde
- H[·] : Atome d'hydrogène réactif
- H₂ : Dihydrogène
- H₂O : Eau
- H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
- Hg : Terme générique employé pour le mercure

Hg⁰ : Mercure élémentaire
Hg²⁺ : Terme générique employé pour le mercure réactif
Hg_i : Terme générique employé pour le mercure inorganique
Hg_{Org} : Terme générique employé pour le mercure organique
Hgp : Terme générique employé pour le mercure réactif atmosphérique particulaire
HNO₃ : Acide nitrique
HO₂[·] : Radical hydroperoxyde
IRGA : Analyseur de gaz par infrarouge
MBR : Méthode de Bowen modifiée
MeHg : Terme générique employé pour le méthyle mercure (CH₃Hg¹)
N₂ : Diazote
N₂O : Protoxyde d'azote
NaN₃ : Azide de sodium
N.H. : Hémisphère nord
NMHC : Hydrocarbures non méthaniques
NO : Monoxyde d'azote
NO₂ : Dioxyde d'azote
NO₃[·] : Radical nitrate
NO_x : Oxydes d'azote
NOAA : National Oceanic and Atmospheric Administration
NPP : Production primaire nette
O(¹D) : Oxygène singulet
O₂ : Oxygène
O₃ : Ozone
OH[·] : Radical hydroxyle
PCR : Réaction de polymérisation en chaîne
PPBV : Partie par milliard (en volume)
PPMV : Partie par million (en volume)
RGD : Détecteur à gaz réducteur
RGM : Terme générique employé pour le mercure réactif atmosphérique gazeux
S.H. : Hémisphère sud

SO_3^{2-} : Sulfite

TGM : Terme générique employé pour le mercure total gazeux

TH : Dihydrogène tritié

VOC : Carbone organique volatile

GLOSSAIRE

Albédo. Quantité d'énergie incidente réfléctée vers l'atmosphère par une surface. L'albédo de la neige est plus élevé que celui de l'eau, ce qui explique pourquoi la diminution du couvert de glace de l'océan Arctique exercera une rétroaction positive sur le réchauffement global de la planète.

Bioaccumulation. Augmentation de la concentration d'un contaminant en fonction du niveau trophique d'une chaîne alimentaire.

Bioconcentration. Tendance d'une substance à s'accumuler dans le biota comparativement à l'eau.

Biota. Ensemble des organismes vivants d'une région géographique donnée.

Capacité oxydative de la troposphère. Enlèvement de gaz à l'état de trace émis dans la troposphère par des molécules réactives oxydantes, telles que l'ozone et les radicaux hydroxyles. En absence de ce mécanisme d'autoépuration de l'atmosphère, le climat sur Terre serait très différent de celui que l'on connaît actuellement.

Changement global. Terme utilisé pour inclure une multitude de changements dans la biosphère. Ce terme général désigne entre autres l'évolution du climat, le changement d'utilisation des terres ainsi que la migration des frontières délimitant les écozones.

Couche limite planétaire. Portion la plus basse de l'atmosphère qui est formée, suivant des interactions entre l'atmosphère et la surface. L'épaisseur de cette couche limite n'est pas constante. Durant la nuit, elle est minimale dû à l'absence de convection de l'air à la surface du sol. Le jour, elle est maximale en raison de l'énergie solaire qui réchauffe la surface du sol, augmentant ainsi la convection de l'air de surface vers l'atmosphère.

Dépôt humide. Transfert de composés de l'atmosphère à la surface (sol, eau) par

l'entremise de précipitations ou de brouillard.

Dépôt sec. Processus par lequel les particules et les gaz de l'atmosphère sont transférés à la surface en réponse à la turbulence de l'air et à leur résistance.

Écosystème. Unité naturel définie selon les organismes vivants qui interagissent avec les facteurs environnementaux abiotiques. Un écosystème peut être de petite (marais) ou de grande taille (océan).

Écozone. Unité écologique caractérisé par des variables biogéographiques et climatologiques. Au Canada, il y a 20 écozones (15 terrestres : *Cordillère arctique*, *Haut-arctique*, *Bas-Arctique*, *Taïga des plaines*, *Taïga du Bouclier*, *Taïga de la Cordillère*, *Plaines hudsoniennes*, *Plaines boréales*, *Bouclier boréal*, *Cordillère boréale*, *Maritime du Pacifique*, *Cordillère montagnarde*, *Prairies*, *Maritime de l'Atlantique* et *Plaines à forêts mixtes* et 5 marins : *Pacifique*, *Archipel arctique*, *Atlantique Nord-Ouest*, *Atlantique* et *Bassin arctique*) qui se différencient par la faune et la flore présentes ainsi que le climat, le relief et les activités humaines.

Flux micrométéorologique du H₂. Unité de mesure des échanges du H₂ entre la surface (sol, manteau neigeux) et la couche limite planétaire. Il existe plusieurs approches différentes pour évaluer les flux micrométéorologiques. Étant donné l'absence d'analyseur de H₂ à réponse rapide (<1 minute), son flux micrométéorologique peut être estimé en multipliant son gradient vertical de concentration par un coefficient de transfert turbulent. Le coefficient de transfert turbulent est calculé à partir d'une mesure directe de la turbulence ou en utilisant des traceurs tels que la chaleur, la vapeur d'eau et le dioxyde de carbone. Contrairement aux méthodes employant des chambres à flux recouvrant des surfaces de ~1 m², les stations micrométéorologiques permettent d'estimer un flux représentatif d'une surface >1000 m².

Forçage extrinsèque du climat. Phénomènes responsables de la variation anthropique ou non naturelle du climat (e.g. émissions des gaz à effet de serre issus de l'activité

anthropique).

Forçage intrinsèque du climat. Phénomènes responsable de la variation naturelle du climat (e.g. éruption volcaniques, inclinaison de la Terre).

Molybdate. Agent antimicrobien utilisé pour inhiber la croissance des bactéries réductrices des sulfates en bloquant les réactions enzymatiques suivant l'activation des sulfates par l'ATP. Le molybdate entraîne un épuisement de l'ATP de la bactérie, engendrant sa mort.

Oxydation partielle des hydrocarbures. Mode de production du H₂ qui se fait en trois étapes : l'oxydation partielle des hydrocarbures, la conversion du monoxyde de carbone et la purification du dihydrogène. Dans la première étape, les hydrocarbures sont acheminés dans un réacteur alimenté en oxygène où se fait l'oxydation partielle (réaction exothermique), générant un gaz de synthèse constitué de dihydrogène, de monoxyde de carbone, de dioxyde de carbone et d'eau. Des réacteurs alimentés à la vapeur favorisent ensuite la réaction de conversion du monoxyde de carbone ($\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2$) et le dihydrogène est ensuite purifié selon les besoins.

Pile à hydrogène. La pile à hydrogène produit de l'électricité, de la chaleur et de l'eau à partir d'une réaction entre le dihydrogène et l'oxygène en présence d'un catalyseur. Elle est constituée d'une anode (charge négative) et d'une cathode (charge positive) séparées par un électrolyte dont la nature est fonction du type de pile. Dans le cas d'une pile à hydrogène à membrane échangeuse de proton, le dihydrogène entrant dans la pile est transformé en électrons et en protons du côté de l'anode en présence d'un catalyseur (e.g. platine, enzymes). Les électrons circulent ensuite dans un circuit électrique (de l'anode vers la cathode) alors que les protons migrent à travers l'électrolyte (membrane échangeuse de protons) vers la cathode afin d'équilibrer les charges. À la cathode, les protons et les électrons se recombinaient à l'oxygène de l'air en présence d'un catalyseur (e.g. platine, enzymes) pour générer de l'eau. Lorsque le catalyseur de la pile est une enzyme ou un micro-organisme, il s'agit d'une biopile à hydrogène.

Polynie. Ouverture formée dans le couvert de glace des océans Arctique et Antarctique. Les polynies sont formées par deux mécanismes : les courants marins ascendants ou le vent. Ces zones représentent les oasis des écosystèmes polaires.

Rétroaction négative (*changement climatique*). Phénomène minimisant le réchauffement global. Par exemple, les aérosols émis des volcans causent un effet de rétroaction négative en diminuant la quantité d'énergie solaire incidente atteignant la surface de la Terre.

Rétroaction positive (*changement climatique*). Phénomène amplifiant le réchauffement global. Par exemple, la diminution de la surface occupée par la glace permanente vient diminuer l'albédo de l'océan Arctique, causant ainsi un effet de rétroaction positive au réchauffement global.

Satellite GOME. GOME est l'acronyme de "Global Ozone Monitoring Experiment". C'est un spectromètre à bord d'un satellite qui mesure la lumière réfléchie vers l'espace par les molécules présentes dans l'atmosphère.

Troposphère. Portion de l'atmosphère qui s'étend à partir de la surface du sol jusqu'à une altitude de 10 km dans les régions polaires et 20 km dans les tropiques. La troposphère est caractérisée par une température qui diminue en fonction de l'altitude et est la portion de l'atmosphère correspondant au plus important réservoir de gaz à l'état de trace.

Utilisation des terres. Modification anthropique d'un environnement naturel. Un des principaux effets de l'utilisation des terres dans les régions tempérées est la déforestation pour faire place à des terres agricoles ou à des zones urbaines.

Vaporeformage des hydrocarbures. Mode de production du H₂ qui se fait en trois étapes : le vaporeformage des hydrocarbures, la conversion du monoxyde de carbone et la

purification du dihydrogène. Dans la première étape, les hydrocarbures sont acheminés dans un réacteur dont la température et la pression sont contrôlées (3-25 atm et 700-850°C respectivement), générant un gaz de synthèse constitué de dihydrogène, de monoxyde de carbone, de dioxyde de carbone, d'eau et de méthane. Des réacteurs alimentés à la vapeur favorisent ensuite la réaction de conversion du monoxyde de carbone ($\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2$) et le dihydrogène est ensuite purifié selon les besoins.

1 INTRODUCTION

1.1 La mise en contexte

C'est en 1896 que Svante Arrhenius proposait qu'un doublement des concentrations de dioxyde de carbone (CO₂) atmosphérique augmenterait la température moyenne de la surface de la Terre de 5 à 6°C (Arrhenius, 1896). En plus d'avoir contribué à établir les fondements de la théorie de l'effet de serre, la relation entre l'activité anthropique et l'évolution du climat évoquée par Arrhenius a suscité une importante controverse. Jusqu'à la fin des années 1950, certains assumaient que le CO₂ émis lors de l'utilisation des combustibles fossiles était fixé par les forêts et les océans, assurant ainsi un équilibre des concentrations du CO₂ atmosphérique. La possibilité d'un réchauffement global résultant d'un déséquilibre du cycle du carbone fut reconnue grâce aux travaux de Charles D. Keeling, le premier à observer une hausse continue des concentrations du CO₂ atmosphérique (Keeling, 1960). Le suivi des concentrations de CO₂ initié par le Pr. Keeling à la station de Mauna Loa (Hawaii) est d'ailleurs toujours en cours et constitue une archive importante démontrant l'évolution de l'abondance du CO₂ atmosphérique en réponse à l'utilisation croissante des combustibles fossiles (Figure 1.1).

Jusqu'à la fin des années 1990, l'origine anthropique des changements climatiques est demeurée une question mitigée due à la complexité des systèmes intervenant dans le contrôle du climat. Le climat répond à une multitude de paramètres environnementaux qui exercent des rétroactions positives (e.g. gaz à effet de serre) et négatives (e.g. aérosols) sur le réchauffement global. C'est donc l'intégration des résultats obtenus par des chercheurs spécialisés dans les domaines de la climatologie, la chimie et la physique qui a permis d'établir l'impact de l'activité anthropique sur l'évolution du climat. Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) a eu un rôle majeur non seulement dans cette intégration des connaissances, mais aussi dans la diffusion de l'information. Fondé sur les données publiées par les scientifiques, le rapport de synthèse produit périodiquement par le GIEC fait état de l'avancement des connaissances à propos des changements climatiques. À la lumière des données disponibles en 2006, le GIEC attribuait à plus de 95% la probabilité pour laquelle le réchauffement global observé au cours de la seconde moitié du dernier siècle soit causé par l'activité anthropique (Solomon et al., 2007).

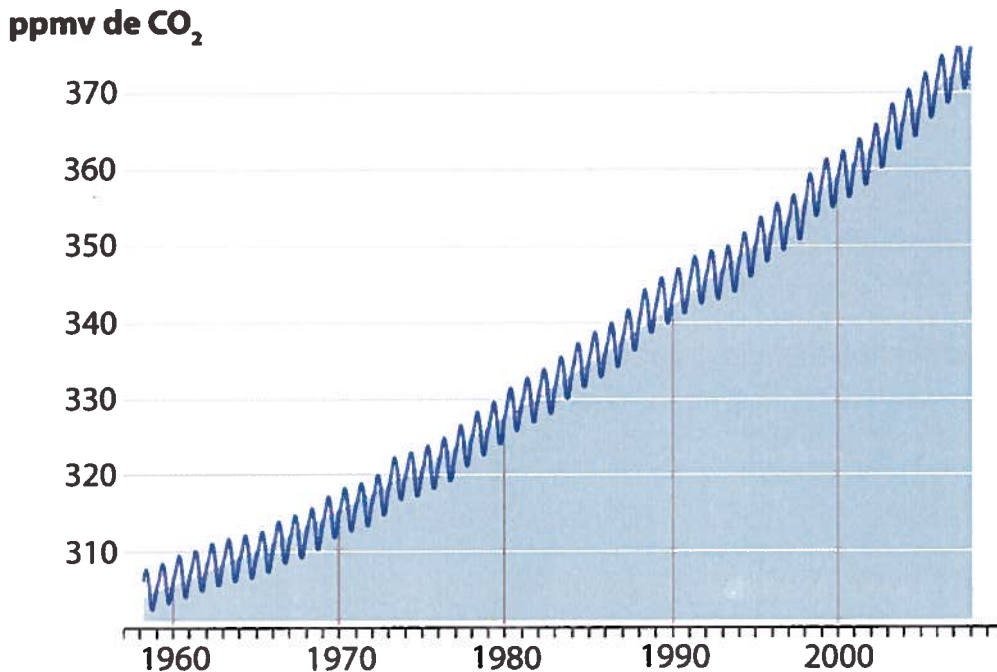


Figure 1.1. Tendence des concentrations du CO₂ atmosphérique mesurées à Mauna Loa (Hawaii) depuis 1958. Source de l'image : Scripps Institution of Oceanography, Californie.

Même si la relation entre l'évolution du climat et l'activité anthropique est maintenant relativement bien établie à l'aide des modèles actuels, la variabilité intrinsèque du climat ainsi que le forçage induit par les aérosols demeurent toujours incertains. Le degré de ces incertitudes s'amenuisera entre autres avec un maintien du suivi et de l'analyse des relevés instrumentaux de température ainsi qu'une meilleure connaissance du rôle des océans, des nuages et de la cryosphère dans la régulation du climat. Parallèlement aux travaux visant à mieux caractériser les forçages intrinsèques et extrinsèques du climat, un des prochains défis consistera à élaborer des scénarios pour anticiper l'effet des changements climatiques sur les cycles biogéochimiques, l'économie et la santé. Les stratégies de recherche utilisées par les scientifiques contemporains tendent donc vers l'interdisciplinarité : une approche intégrée visant à établir des interrelations entre différents systèmes et processus interactionnels. Le présent programme de recherche a donc été réalisé en adoptant une approche interdisciplinaire

pour étudier le cycle biogéochimique du dihydrogène (H₂) et du mercure (Hg). Plus spécifiquement, les travaux entrepris visaient à caractériser le dépôt sec du H₂ atmosphérique et à déterminer l'origine et la stabilité du méthyle mercure (MeHg) détecté dans le manteau neigeux subarctique. Ces deux derniers thèmes ont été sélectionnés en raison de leur importance dans le cycle biogéochimique du H₂ et du Hg, ainsi que leur susceptibilité au changement global. Les deux prochaines sections de cette mise en contexte présenteront les détails entourant les deux principales questions abordées, les objectifs spécifiques du programme de recherche ainsi que les approches expérimentales employées. Enfin, la stratégie établie pour analyser les interrelations entre les deux thèmes à l'étude, ainsi que leur vulnérabilité au changement global, sera introduite.

1.2 Le dépôt sec du H₂

Ressource inépuisable ne générant aucun sous-produit altérant la qualité de l'air lors de son utilisation, le H₂ est souvent considéré comme la source d'énergie du futur. La mise en place d'une économie basée sur le H₂ est envisagée non seulement pour une question environnementale, mais aussi pour répondre à l'épuisement des réserves en combustibles fossiles anticipé ainsi qu'à la demande énergétique mondiale qui est en plein essor. Une économie basée sur le H₂ combinerait l'utilisation du H₂ comme vecteur d'énergie alimentant des piles à hydrogène. Actuellement, la production du H₂ repose principalement sur le vaporeformage ou l'oxydation partielle d'hydrocarbures (Olah et al., 2006). Puisque ces dernières technologies sont dépendantes des réserves en combustibles fossiles et génèrent des émissions de CO₂ (Ogden, 1999), elles ne peuvent justifier à elles seules l'utilisation du H₂ à grande échelle. Dans le contexte d'une économie basée sur le H₂, une transition graduelle devrait plutôt s'opérer vers des technologies alternatives basées sur des bioprocédés ou l'utilisation de ressources renouvelables telles que l'énergie solaire, l'hydroélectricité et l'énergie éolienne. Ces trois dernières technologies fourniraient de l'énergie pour une production de H₂ exempte d'émissions de CO₂ à partir de l'électrolyse de l'eau (Marbán et Valdés-Solis, 2007). Puisque la production globale annuelle du H₂ comblerait moins de 2% de la demande totale d'énergie actuelle (Olah et al., 2006), la transition vers une économie basée sur le H₂ pourrait s'étendre sur plusieurs décennies. Des efforts considérables seront nécessaires

pour rendre cette filière énergétique environnementalement et économiquement viable en optimisant non seulement les procédés de production, mais aussi les méthodes d'entreposage ainsi que l'efficacité des piles à hydrogène. Différentes combinaisons de procédés de production, de transport et d'entreposage ont été proposés (McDowall et Eames, 2007) et des projets pilotes ont d'ailleurs déjà été mis de l'avant pour mettre leur efficacité à l'épreuve (e.g. *Ecological city transport system*, République d'Islande).

Sachant qu'une utilisation du H₂ à grande échelle risque d'augmenter son facteur d'émission global vers l'atmosphère, il devient important de déterminer l'impact de ces futures émissions sur la concentration globale du H₂ atmosphérique, particulièrement dans la troposphère. Cette dernière représente le compartiment de l'atmosphère qui s'étend de la surface de la Terre jusqu'à une altitude moyenne de 10 à 15 km. C'est dans la troposphère que se retrouvent la majorité des gaz à l'état de trace émis à partir de sources naturelles et anthropiques distribuées à la surface de la planète. Des réactions photochimiques génèrent des radicaux libres qui contrôlent la constitution de la troposphère en oxydant les gaz réducteurs, tels que le H₂ et le méthane (CH₄). Les connaissances actuelles au sujet du cycle biogéochimique du H₂ ne permettent pas de d'anticiper l'impact qu'occasionnerait une augmentation des émissions de H₂ sur la capacité oxydative de la troposphère. Une meilleure connaissance des processus responsables des transformations du H₂ dans l'environnement permettrait de déterminer à quel point les pertes de H₂ devraient être minimisées lors de sa production, son transport, son entreposage et son utilisation.

Actuellement, le bilan des sources et des puits du H₂ troposphérique tend vers l'équilibre. Environ 20% des pertes du H₂ troposphérique sont attribuées à une oxydation par les radicaux hydroxyles (OH[•]), des molécules ayant un rôle majeur dans la photochimie de la troposphère. Des modèles sophistiqués ont été développés pour anticiper l'effet d'une augmentation des émissions de H₂ sur l'abondance des OH[•] et la photochimie générale de la troposphère. La principale faiblesse de ces modèles demeure l'extrapolation du taux de consommation du H₂ par les micro-organismes du sol, un paramètre qui est assumé invariable pour le futur. Ce puits biologique du H₂, mieux connu sous le nom de dépôt sec du H₂, est responsable d'environ 80% des pertes du H₂ troposphérique. Malgré son importance dans le budget du H₂, les données concernant la

résolution spatiale et temporelle des dépôts secs du H_2 sont particulièrement limitées et les micro-organismes impliqués sont toujours non identifiés.

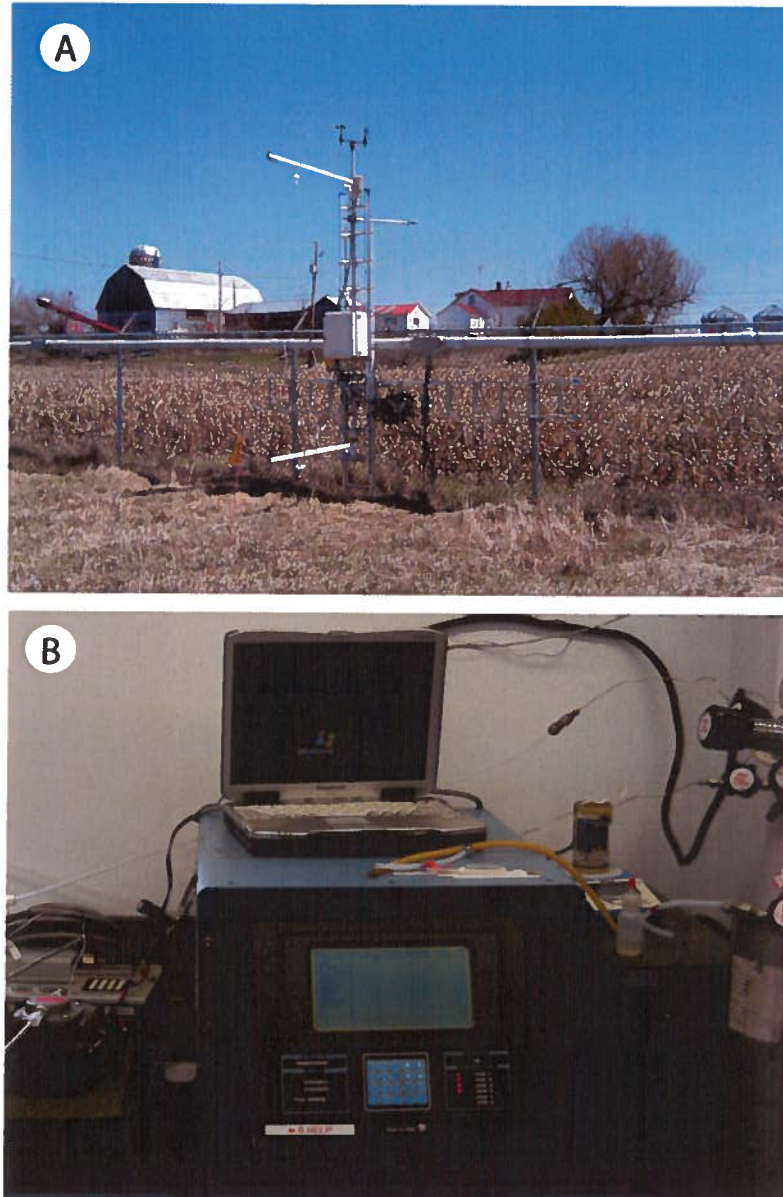


Figure 1.2. Photographie de l'instrumentation opérée à St-Anicet pour établir le bilan annuel des flux de H_2 . (A) Une station micrométéorologique de type Bowen Ratio a été déployée afin de mesurer les flux de H_2O , CO_2 , H_2 et CO . (B) L'instrumentation utilisée pour mesurer le gradient de concentration vertical du H_2 et du CO était opérée à l'intérieur de la station de recherche, où la température était contrôlée.

Jusqu'à présent, des évidences indirectes suggèrent que les micro-organismes consommant le H₂ troposphérique synthétiseraient des hydrogénases ayant une forte affinité pour le H₂ (K_m < 100 ppmv), mais ces dernières enzymes n'ont jamais été purifiées. Par ailleurs, il est connu que la température ainsi que le contenu en eau et en carbone organique du sol sont tous des paramètres qui influencent les dépôts secs du H₂ troposphérique. En se basant sur les connaissances actuelles entourant le dépôt sec du H₂, il est donc raisonnable de s'attendre à ce que la combinaison "*changement global et augmentation des émissions de H₂*" bouleverse le budget du H₂ troposphérique. Des études ciblées visant à caractériser le processus de consommation du H₂ par les micro-organismes du sol seront cependant nécessaires pour valider cette hypothèse. C'est d'ailleurs dans cette optique que les objectifs spécifiques à cette portion du programme de recherche ont été élaborés. Ces objectifs consistaient à :

- 1-Établir un bilan annuel des flux micrométéorologiques du H₂ dans une région rurale;
- 2-Identifier les facteurs environnementaux influençant le dépôt sec du H₂;
- 3-Développer une stratégie d'enrichissement pour identifier des micro-organismes impliqués dans la consommation du H₂ troposphérique.

Les travaux comportaient donc deux phases visant à caractériser le dépôt sec du H₂ aux échelles écosystémique et microbiologique. La première phase a impliqué des travaux de terrain où le cycle annuel et les variables environnementales modulant les échanges surface-air du H₂ ont été étudiés. Pour les besoins de cette étude, un analyseur de gaz à l'état de trace et une station micrométéorologique ont été déployés à une station de recherche localisée à St-Anicet (Figure 1.2). Cette station de recherche est utilisée par l'équipe de L. Poissant depuis le début des années 1990 pour étudier les processus atmosphériques du Hg, des pesticides et des gaz à l'état de trace. En se basant sur les données disponibles dans la littérature, il était raisonnable d'anticiper que le site sélectionné représenterait un puits pour le H₂ troposphérique. Sachant que les dépôts secs du H₂ nécessitent la présence d'une flore microbienne active et sont influencés par la diffusion du H₂ dans le sol, l'hypothèse de départ était que les flux de H₂ suivraient un cycle saisonnier bien défini. Les dépôts secs du H₂ seraient optimums durant la saison estivale où l'effet de température, combiné à celui de l'assèchement du sol favoriserait les

pertes au sol. Au contraire, ces dépôts secs seraient absents en hiver, lorsque la température du sol est sous le point de congélation.

La seconde phase des travaux a été réalisée en laboratoire. L'hypothèse de départ était que l'enrichissement de micro-organismes utilisant le H₂ comme source d'énergie ou produisant des hydrogénases à forte affinité pour le H₂ serait favorisée par une exposition du sol à des concentrations de H₂ ambiantes, sans ajouts de sources de carbone ou de nutriments lors de l'incubation. Une approche originale, impliquant le suivi simultané de l'activité de consommation du H₂ par le sol et sa diversité microbienne, a donc été développée. Lors de ces essais, un analyseur de gaz à l'état de trace permettait de mesurer le taux de consommation du H₂ par des échantillons de sol de St-Anicet dont les populations microbiennes étaient suivies par des méthodes d'écologie microbienne dépendantes et indépendantes de la culture.

1.3 La présence de MeHg dans la neige d'un écosystème subarctique

Le Hg est un élément qui se retrouve naturellement dans la croûte terrestre. L'exploitation des combustibles fossiles a contribué à transférer une importante quantité de Hg dans l'atmosphère. Le Hg atmosphérique est dans un état transitoire où il subit différentes réactions d'oxydoréduction qui déterminent ensuite sa compartimentation dans la biosphère. La forme élémentaire gazeuse (Hg⁰) est insoluble et demeure dans l'atmosphère alors que les formes réactives sont hydrophiles et rapidement transférées sur les surfaces humides. Dans les écosystèmes aquatiques et terrestres, le Hg ainsi déposé peut être transformé en MeHg, une neurotoxine qui se bioaccumule dans la chaîne alimentaire. Cette méthylation du Hg est un métabolisme fortuit observé chez certains micro-organismes, tels que les bactéries réductrices des sulfates (BRS), mais provient aussi de réactions abiotiques impliquant entre autres les acides humiques.

Malgré sa situation géographique, l'Arctique est susceptible aux contaminants en provenance des régions industrialisées. Dans le cas du Hg, la concentration détectée dans les tissus de poissons dépasse même parfois les limites prescrites par Santé Canada, occasionnant ainsi des problèmes de santé chez des autochtones. Le transfert du Hg d'origine anthropique au biota peut se faire via un dépôt atmosphérique, un transport par les masses d'eau et les espèces migratoires. Plusieurs scientifiques se sont intéressés à

identifier le vecteur responsable du transfert du Hg d'origine anthropique au biota arctique. Les recherches réalisées au cours des dix dernières années suggèrent que le lessivage du Hg atmosphérique printanier, un phénomène unique aux régions polaires, pourrait être un vecteur important.

La découverte des événements de lessivage du Hg atmosphérique printaniers (ELMA) à Alert (Canada) au milieu des années 1990 a changé les fondements de la chimie atmosphérique du Hg. Au levé du soleil polaire, un largage autocatalytique de molécules d'halogènes réactifs bouleverse la spéciation du Hg atmosphérique. Le Hg⁰ atmosphérique est oxydé en Hg réactif qui se dépose ensuite dans le manteau neigeux sous une forme biodisponible pour le biota. Cette oxydation du Hg⁰ atmosphérique se traduit par une baisse dramatique de sa concentration qui passe de 1,7 à ~0 ng m⁻³. Le transfert du Hg atmosphérique vers la neige n'est pas unidirectionnel puisque 25% du Hg déposé est réémis vers l'atmosphère suivant des réactions de réduction photo induites. Les 75% restant demeurent donc dans la neige, mais leur destin est toujours inconnu. Lors de la fonte des neiges, une charge importante de Hg est transférée aux écosystèmes arctiques, représentant un risque d'exposition pour les populations locales. La contribution exacte des ELMA dans la contamination du biota arctique est toujours mitigée, mais la détection du MeHg dans la neige suggère que les ELMA ont un potentiel écotoxicologique réel.

Depuis 1999, l'équipe de L. Poissant s'est intéressée à étudier les processus atmosphériques entraînant les ELMA ainsi que le risque d'exposition du biota au Hg déposé dans le manteau neigeux de Whapmagoostui-Kuujuarapik, un écosystème subarctique situé dans le nord du Québec (Figure 1.3) (Poissant, 2001; Poissant et Pilote, 2003; Poissant et Hönninger, 2004; Carpenter et al., 2005). Ces travaux ont entre autres démontré l'impact des ELMA sur l'enrichissement de la neige en Hg total et la réactivité du manteaux neigeux, où le Hg⁰ présent dans l'air interstitiel de la neige est oxydé en Hg réactif (Dommergue et al., 2003a, 2003b) par des réactions qui pourraient impliquer des molécules réactives, telles que le peroxyde d'hydrogène (Lahoutifard et al., 2006). Les études ont également montré que les ELMA observés dans les régions subarctiques étaient le résultat d'un transport de masses d'air en provenance du nord de la Baie d'Hudson, site où serait initiée la réaction d'oxydation du Hg⁰ atmosphérique (Gauchard

et al., 2005b). Au cours des différentes campagnes d'échantillonnage réalisées dans les écosystèmes arctique et subarctique, les concentrations de MeHg pouvaient représenter jusqu'à 5% du Hg total, mais son origine était inconnue. Des évidences indirectes suggèrent que le MeHg détecté dans la neige provient des aérosols marins. Toutefois, si l'on considère la réactivité chimique et la présence de micro-organismes dans le manteau neigeux, il est raisonnable d'émettre une hypothèse qui propose l'existence de réactions encore non documentées générant du MeHg dans le manteau neigeux à partir du Hg biodisponible d'origine atmosphérique. Étant donné l'existence de réactions de méthylation et déméthylation photo induites conduisant en la dégradation du MeHg dans les cours d'eau, les concentrations de MeHg détectées dans la neige subarctique pourraient également suivre un cycle diurne. Cette portion du programme de recherche constituait la suite logique des travaux amorcés par l'équipe de L. Poissant et visait à identifier des sources potentielles ainsi que la stabilité du MeHg détecté dans la neige subarctique. Les objectifs spécifiques consistaient donc à :

- 1-Déterminer si les ELMA sont accompagnés d'une augmentation des concentrations de MeHg dans le manteau neigeux ;
- 2-Déterminer le potentiel de production et la stabilité du MeHg dans le manteau neigeux ;
- 3-Expliquer la variation spatiale des concentrations de Hg total et de MeHg détectées dans la neige.

Les travaux qui ont eu lieu à Whapmagoostui-Kuujuarapik consistaient essentiellement à relier les processus atmosphériques du Hg avec la variation des concentrations de Hg total et de MeHg dans la neige. Les concentrations de Hg atmosphériques étaient déterminées avec un analyseur automatique qui permettait d'observer en temps réel le déclenchement des ELMA. Deux campagnes d'échantillonnage ont été réalisées : la première en mars 2004 (durant les ELMA) et la seconde en avril 2005 (durant la fonte des neiges). Plusieurs variables telles que la température, la concentration en chlorures (Cl^-) et en sulfates (SO_4^{2-}), la concentrations des solides totaux et des solides totaux volatils, ainsi que le dénombrement des bactéries hétérotrophes cultivables de la neige ont été mesurées pour expliquer la variation des concentrations de MeHg observée.



Figure 1.3. Photographies du site où les travaux portant sur la microbiogéochimie du Hg ont été entrepris. (A) Centre d'Études Nordiques basé à Whapmagoostui-Kuujjuarapik (Université Laval) où l'étude des processus atmosphériques du Hg, de l'ozone ainsi que d'autres gaz à l'état de trace a été entreprise par l'équipe de L. Poissant depuis 1999. (B) La région est située à la frontière entre la toundra et la forêt taïga, sur la côte Est de la Baie d'Hudson.

1.4. Interprétation des résultats en utilisant une approche intégrée

A priori, le dépôt sec du H₂ et la présence de MeHg dans le manteau neigeux subarctique sont la conséquence de réactions biologiques et chimiques indépendantes. Jusqu'à présent, il demeure impossible d'affirmer ou d'infirmer que les micro-organismes consommant le H₂ troposphérique ont la capacité de faire la méthylation du Hg. Néanmoins, certains facteurs environnementaux, dont la température ainsi que le contenu en eau et en matières organiques du sol, influencent non seulement le dépôt sec du H₂, mais aussi les réactions menant à la production de MeHg ainsi que des ELMA. Dans le contexte du changement global, ces facteurs environnementaux sont donc à la base des interrelations complexes qui existent entre le cycle biogéochimique du H₂ et du Hg. Les écosystèmes subarctique et arctique étant ceux qui subiront les changements les plus importants en réponse au réchauffement global, ils représentent un modèle idéal pour inférer des scénarios quant au devenir des processus impliqués dans les échanges surface-air et les transformations du H₂ et du Hg ayant lieu dans l'environnement. Toujours dans un contexte d'interdisciplinarité, les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude ont donc été utilisés pour montrer que le changement global risque de déclencher des boucles de rétroactions positives et négatives qui exerceront respectivement une amplification ou une diminution des dépôts secs du H₂ et des décharges printanières de MeHg (Figure 1.4). Cette analyse permettra d'établir un lien original entre la migration des frontières délimitant les écozones actuels et le bouleversement du cycle biogéochimique du H₂ et du Hg. Les scénarios proposés pourront être à la base de futurs programmes de recherche, liés aux problématiques étudiées.

1.5 Présentation du document

Cette thèse est présentée sous forme d'articles scientifiques. Elle a été divisée en trois parties, conformément aux modalités et règles de présentation des mémoires et thèses à l'INRS. La partie I traite essentiellement des études spécifiques au H₂, alors que la partie II fait état des travaux au sujet du Hg. Pour les deux premières parties, une revue de littérature exhaustive est présentée et les résultats sont exprimés à travers les articles scientifiques publiés qui sont présentés dans leur intégralité. C'est finalement sous forme d'une discussion que les résultats obtenus sont intégrés dans une perspective du

changement global. Des futures avenues de recherche sont également proposées afin de répondre à des questions spécifiques soulevées suite à la réalisation du programme de recherche.

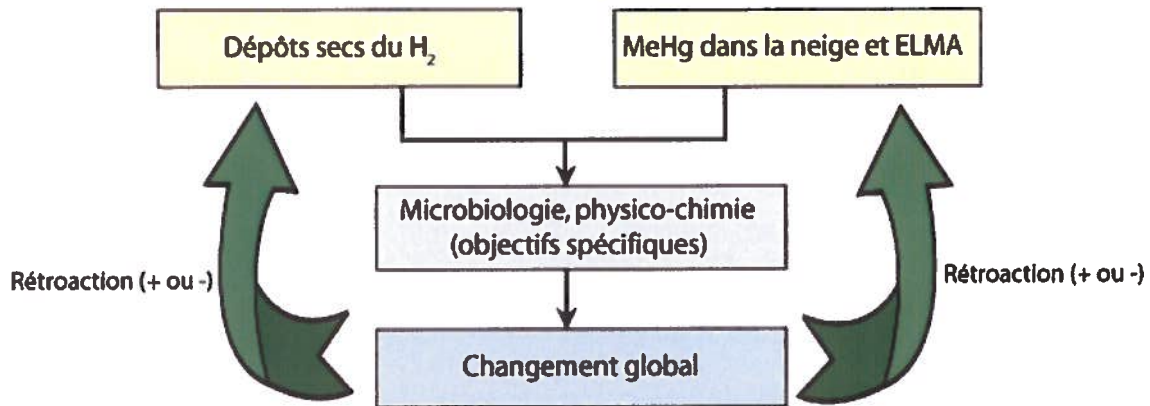


Figure 1.4. Schématisation de la structure du programme de recherche. Les travaux ont été réalisés en utilisant une approche intégrée pour évaluer l'effet de rétroaction positive ou négative du changement global de la biosphère sur le dépôt sec du H_2 et la production de MeHg dans la neige exposée aux ELMA.

PARTIE I: LE DÉPÔT SEC DU H₂

Cette section du programme de recherche a conduit en la rédaction de trois articles scientifiques. L'article 1 fait une revue de littérature au sujet du cycle biogéochimique du H₂, alors que les deux autres articles soulignent les principaux résultats obtenus. L'article 2 présente le volet écosystémique où les flux micrométéorologiques et les concentrations du H₂, CO et CO₂ ont été mesurés pour une période de 1 an à la station de recherche de St-Anicet. Finalement, l'article 3 fait état des travaux réalisés à l'échelle du laboratoire où le premier micro-organisme démontrant une activité de consommation du H₂ atmosphérique à haute affinité a été isolé du sol de St-Anicet.

2 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 1

2.1 Mise en contexte de l'article 1

Le but de cet article était de faire une revue critique au sujet de l'état actuel des connaissances entourant le cycle biogéochimique du H₂. Cet article, soumis au journal *Science of the Total Environment*, sera le premier à décrire les processus microbiogéochimiques modulant le transfert du H₂ entre les différents compartiments de la biosphère. L'article a été écrit non seulement pour indiquer les principales lacunes dans la compréhension du cycle biogéochimique du H₂, mais aussi dans le but de proposer de nouvelles avenues de recherches ciblées, dont les résultats apporteraient des avancées importantes dans le domaine. Ces recherches permettront entre autres de déterminer l'effet du changement global sur le cycle biogéochimique du H₂ et d'identifier les micro-organismes ayant une forte affinité pour le H₂ afin d'exploiter leur potentiel biotechnologique.

Cet article est le résultat de l'initiative de l'étudiant et a été rédigé avec R. Villemur (Ph.D.) et L. Poissant (Ph.D.).

2.3 Article 1: Tropospheric H₂ Cycling Under the Changing Environment

Philippe Constant^{1,2*}, Laurier Poissant² and Richard Villemur¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, Canada, H7V 1B7

²Direction des sciences et de la technologie, Environnement Canada, 105 rue McGill, Montréal, Québec, Canada, H2Y 2E7

*Corresponding author

Cet article a été soumis au journal *Science of the Total Environment* le 21 avril 2008.

2.4 Résumé

Le H₂ est un gaz à effet de serre indirect présent à l'état de trace dans l'atmosphère. Jusqu'à présent, le bilan de ses sources et de ses puits est près de l'équilibre, mais son utilisation à grande échelle en tant que source d'énergie alternative pourrait modifier sa charge atmosphérique. Les futures émissions de H₂ sont évidemment difficiles à anticiper et sont actuellement matière à débat. Les efforts investis pour prédire l'impact que la future économie basée sur l'H₂ pourrait exercer sur la chimie troposphérique ont été faits en assumant que le taux de consommation du H₂ par le sol, responsable de ~80% des pertes du H₂ troposphérique, resterait stable dans le futur. Même si le dépôt sec du H₂ représente le plus important puits du H₂ troposphérique, les micro-organismes impliqués dans cette activité demeurent inconnus. Étant donné que le dépôt sec du H₂ est influencé par plusieurs paramètres environnementaux, le changement global aura un impact sur cette activité, ce qui suggère qu'assumer un taux de dépôt atmosphérique constant pour le futur soit incorrect. Dans cet article, nous présentons une revue du cycle biogéochimique du H₂ ainsi que sa distribution dans l'environnement. Après avoir fait la description des facteurs environnementaux qui influencent l'activité de consommation du H₂ par les micro-organismes du sol, nous établissons la distinction entre les micro-organismes consommant les traces de H₂ présentes dans la troposphère de ceux qui utilisent le H₂ présent en fortes concentrations dans des micro-environnements spécifiques. Nous terminons notre analyse en proposant de nouvelles recherches pour étudier l'influence du changement global de la biosphère sur le cycle du H₂ dans l'environnement et identifier des micro-organismes impliqués dans les pertes de H₂ au sol. Étant donné leur forte affinité pour le H₂, ces micro-organismes sont prometteurs pour le développement de biopiles générant de l'électricité à partir de mélanges de gaz contenant de faibles concentrations en H₂.

2.5 Abstract

H₂ is an indirect greenhouse gas present at the trace level in the atmosphere. So far, the sum of its sources and sinks is close to equilibrium, but its large-scale utilization as an alternative energy source would alter its atmospheric burden. Obviously, the magnitude of the emissions associated with a future H₂-based economy is very difficult to predict and remains a matter of debate. Previous attempts to predict the impact that a future H₂-based economy would exert on tropospheric chemistry were realized by considering a steady rate of microbial-mediated soil uptake, which is currently responsible of ~80% of the tropospheric H₂ losses. Although soil uptake is the most important sink for tropospheric H₂, microorganisms involved in the activity remain elusive. Given that H₂ soil uptake is influenced by several environmental factors, global changes should exert a significant effect on the activity and then, assuming a steady H₂ soil uptake rate for the future may be mistaken. Here, we present an overview of the H₂ biogeochemical cycle and its distribution in the environment. Following a description of the environmental factors influencing microbial-mediated tropospheric H₂ soil uptake activity, we distinguish microorganisms consuming the trace levels of H₂ present in the atmosphere from those utilizing H₂ present at high concentrations in particular micro habitats. We conclude by proposing future researches to investigate the influence that global change would exert on H₂ cycling in the environment and the identification of the microorganisms involved in the H₂ soil uptake activity. Due to their extremely high affinity for H₂, these microorganisms are promising for the development of fuel cells generating electricity from low-level H₂ gas mixtures.

2.6 Introduction

Biogenic trace gas fluxes occurring in the terrestrial and aquatic ecosystems control the oxidative photochemistry of the troposphere (Conrad, 1996; Monson and Holland, 2001). The oxidative capacity of the troposphere is defined by the chemical reactions involving O_x (O_2 : oxygen, O_3 : ozone), HO_x (OH^\cdot , HO_2^\cdot : hydroperoxyl radical) and NO_x (NO : nitrogen monoxide, NO_2 : nitrogen dioxide) species that are oxidizing reducer gases such as H_2 and CH_4 . Among the latter molecules, OH^\cdot is the most important reactive species of the troposphere. OH^\cdot are responsible of more than 85% of the losses of CH_4 , carbon monoxide (CO) and other tropospheric trace gases (Monks, 2005). OH^\cdot production involves the oxidation of water vapour (H_2O) by the singlet oxygen radical ($O(^1D)$), generated following O_3 photodissociation (Figure 2.1). Due to their high reactivity, OH^\cdot have a very short atmospheric lifetime, in the order of the seconds. Their background concentrations are typically around $1-10 \times 10^6$ molecules cm^{-3} (Seinfeld and Pandis, 1998), but are influenced by local conditions such as ecosystems hydrology and air quality. Biological processes involved in the production and the consumption of H_2 , CH_4 and CO exert then a control on OH^\cdot tropospheric concentrations (Monson and Holland, 2001). Once emitted, these trace gases are oxidized by OH^\cdot , at specific second-order reaction rates. By-products of these oxidation reactions enter in secondary reactions resulting to the regeneration of OH^\cdot , or its loss following the formation of nitric acid (HNO_3), hydrogen peroxide (H_2O_2) or H_2O (Figure 2.1).

Global change, including changes in climate, ecosystem cover and land-use that are influencing the ecophysiology of the environments should exert thoughtful effect on the oxidizing capacity of the troposphere (Thompson, 1992; Denman et al., 2007). Understanding the processes involved in the production and consumption of biogenic trace gases is then crucial to infer the impact of global change on their trends and for land-use management. Since H_2 is considered as an alternative energy source, one should expect that its large-scale utilization would modify its tropospheric burden and then, induce change in the oxidative capacity of the troposphere, but actual knowledge is insufficient to verify that hypothesis. This review provides an assessment about the sources and sinks of tropospheric H_2 as well as the H_2 concentrations that are detected in the environment. We examine the environmental factors that are limiting its surface to air

exchanges and present the current understanding of H₂ microbial-mediated soil uptake, which is currently responsible of ~80% of the tropospheric H₂ losses. Future researches dedicated to identify the microorganisms involved in H₂ soil uptake and to study their response to global changes are also proposed. Because of their high affinity for H₂, it is anticipated that microorganisms involved in tropospheric H₂ uptake would improve the yield of biofuel cells.

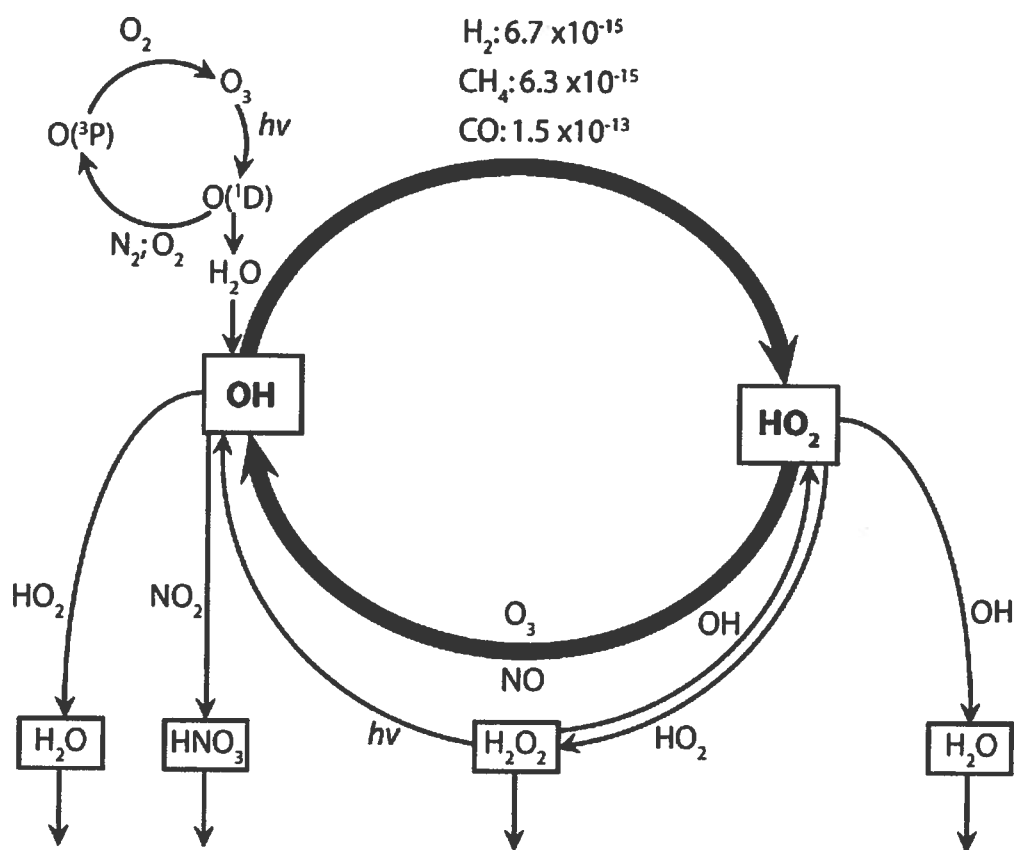


Figure 2.1. Overview of photochemical reactions involving the oxidants O₃, OH[•] and H₂O₂ and some biogenic trace gases in the troposphere. Numbers are the rate coefficients for the second-order gas phase reactions at 298°K (molecules cm⁻³ s⁻¹) (adapted from Seinfeld and Pandis, 1998).

2.7 Biogeochemical cycle of atmospheric H₂

Henry Cavendish was the first to characterize H₂, formerly called *inflammable air* that was generated following the dissolution of metallic substances in acids or during fermentation experiments (Cavendish, 1766). The name hydrogen (from the *Greek hydro* for water and *genes* for producer) was then proposed by Antoine Laurent Lavoisier who observed the formation of water vapour on the walls of his glass tubes after inducing combustion of the *inflammable air*. Accounting for less than 1% of the atmospheric constituents, H₂ is part of the trace gases of the atmosphere. Even with its low concentration (~530 ppbv), H₂ is involved in the complex reactions that are maintaining the atmosphere in its current oxidation state (Figure 2.1). Opposite to the atmospheric concentrations of CO₂, CH₄ and N₂O (nitrous oxide), H₂ levels have remained relatively stable since the beginning of the industrialization. There is currently no consensus for inter annual fluctuations of H₂ tropospheric concentrations (Table 2.1), but it is generally well accepted that the sources and the sinks of H₂ are at equilibrium. Even if the main sources and sinks of tropospheric H₂ have been identified, the incidence that a modification of its global emission factor would exert on its global concentrations is still unknown.

Table 2.1. Estimation of the inter-annual atmospheric H₂ concentration fluctuations by using long term monitoring stations.

Investigated period	Observed trend	References
1985-1989	+3.2 ± 0.5 ppbv yr ⁻¹	Khalil and Rasmussen, 1990b
1991-1996	-2.3 ± 0.1 ppbv yr ⁻¹	Novelli et al., 1999
1994-1998	+1.2 ± 0.8 ppbv yr ⁻¹	Simmonds et al., 2000

The first reliable H₂ tropospheric concentrations (0.5 ± 0.05 ppmv) have been reported in an assessment about the constitution of the atmosphere (Paneth, 1937). H₂ concentrations measured in the troposphere of several locations, in the lower stratosphere

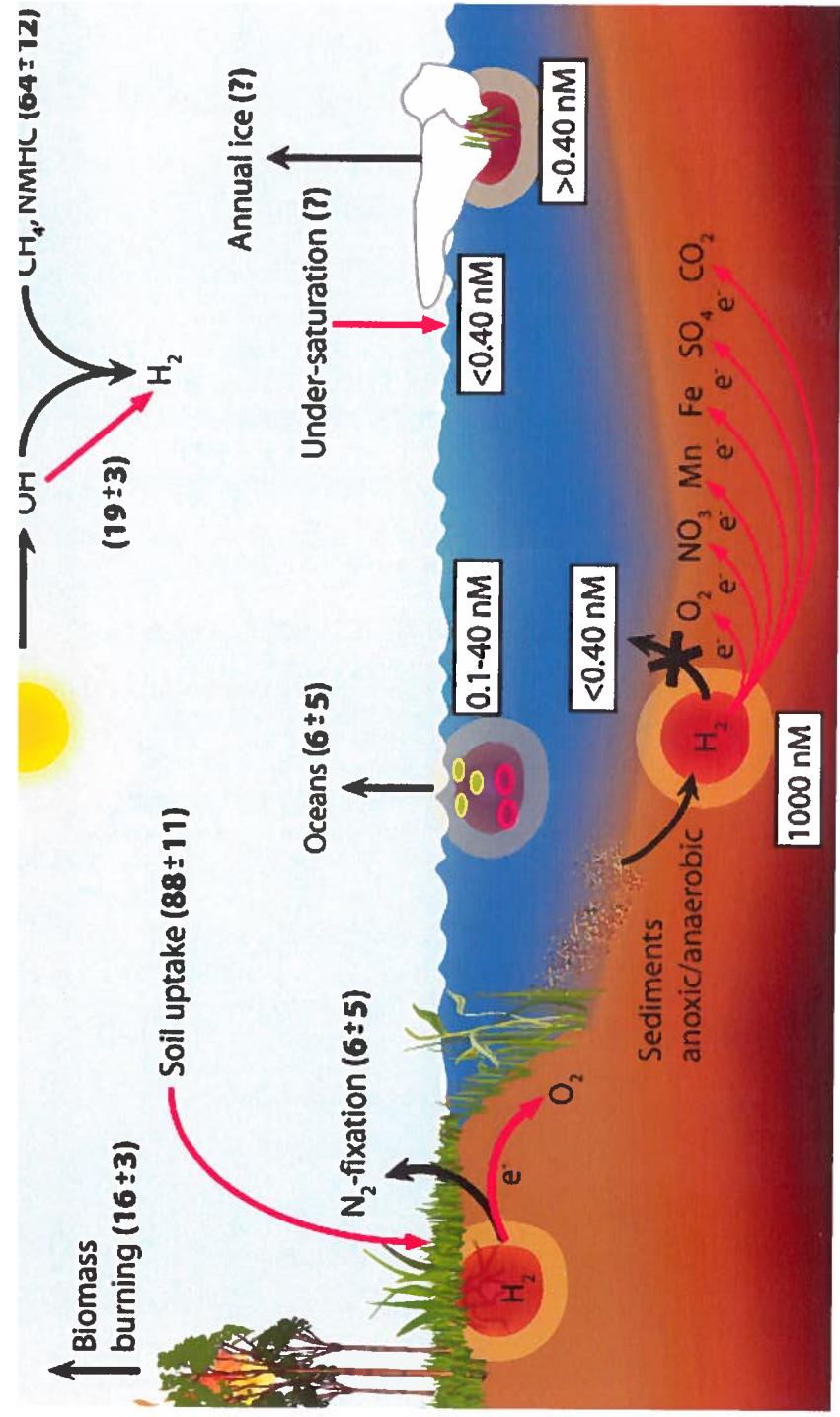
and in the surface Atlantic Ocean waters were compiled in 1974, for the first quantitative evaluation of the atmospheric H₂ budget (Schmidt, 1974). Afterward, the long-term monitoring of tropospheric H₂ undertaken by international networks (National Oceanic and Atmospheric Administration of the U.S.A. and the Commonwealth Scientific and Industrial Organization of Australia) refined the spatial, seasonal and inter-annual variations of the global H₂ concentrations, improving knowledge about the sources and sinks of this trace gas. Advances in the characterization of the isotopic signature of H₂ sources and sinks have also significantly improved knowledge about H₂ cycling (Table 2.2). In the troposphere, H₂ has a deuterium/protium ratio (D/H; δD) which is enriched of +120‰ relative the Vienna Standard Mean Ocean Water.

So far, the budget of tropospheric H₂ has been estimated by using three different approaches. The first approach, the “*bottom-up method*” is based on H₂ emissions and consumption factors measured at specified times and locations that are subsequently extrapolated on a global scale. Even if this method has uncertainties related to the limited locations and time periods investigated, it provided the first estimations of the H₂ budget (Schmidt, 1974; Conrad and Seiler, 1980; Novelli et al., 1999). A second approach is based on the utilization of a box model to establish the mass balance of H₂ from extensive observations of its global concentrations and δD variations. This is then a “*top-down method*” independent of the measured H₂ emission and consumption factors. For instance, seasonal variations of H₂ concentrations and δD were utilized to derive an apparent isotopic fractionation factor, reflecting the main H₂ sinks processes; soil uptake and OH[•] oxidation (Rhee et al. 2006b). Since the isotopic fractionation factor for H₂ soil uptake and OH[•] oxidation are well established, it was then possible to partition their relative contribution (Rhee et al., 2006b). The third approach consists of two- and three-dimensional chemical transport models that are utilized to analyze the H₂ concentrations distribution predicted after entering documented H₂ emission and consumption factors in chemistry-transport models (Hauglustaine and Ehhalt, 2002; Sanderson et al., 2003; Price et al., 2007; Xiao et al., 2007). Actual knowledge about the partitioning of the different sources and sinks of tropospheric H₂ is summarized in Figure 2.2.

Table 2.2. Isotopic composition and kinetic isotopic effect (KIE) for H₂ sources and sinks.

Sources	δD^1 (‰ VSMOW)	References
Fossil fuel combustion	-91 to -310	Gerst and Quay, 2001; Rahn and al., 2003
Biomass burning	-290 ±60	Gerst and Quay, 2001
CH ₄ oxidation	+130 - 310	Gerst and Quay, 2001; Röckmann et al., 2003; Rhee et al., 2006a; Price et al., 2007
N ₂ Fixation	-778 to -690	Rahn et al., 2002b
Oceans	-778 to -690	Rahn et al., 2002b
Sinks	Kinetic isotopic effect (α)	
OH oxidation (α_{OH})	1.65 to 1.68	Ehhalt et al., 1989; Talukdar et al., 1996
Soil uptake (α_{soil})	0.94 to 1.06	Gerst and Quay, 2001; Rahn et al., 2002a

¹ δD is expressed as a ratio of deuterium to hydrogen where $\delta D = 1000 \times [(D/H)_x / (D/H)_{VSMOW} - 1]$, x is the matrix analyzed and Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW = 1.5575×10^{-4}) is an internationally recognized standard.

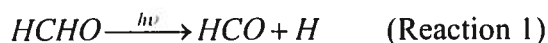


of the H₂ biogeochemical cycle. The main H₂ sources (black arrows) and sinks (red arrows) are presented. The concentrations are the terms of the global budget expressed in Tg yr⁻¹ (1 Tg = 10¹² g) and are based on the H₂ budget of Rhee et al. (2006b) and Warneck (1988).

2.8 Sources of atmospheric H₂

2.8.1 Methane and non methane hydrocarbons oxidation (NMHC)

Photochemical oxidation of CH₄ and NMHC is the most important source of H₂ for the atmosphere. CH₄ is a greenhouse gas emitted mainly from wetlands as end-product of microbial methanogenesis. Fossil fuels combustion contributes also to global CH₄ emissions but other anthropogenic emissions such as domestic ruminant's enteric fermentation, rice paddies and biomass burning the most important sources. In the atmosphere, generation of H₂ from CH₄ oxidation occurs within a well-documented complex set of reactions involving five main intermediates steps leading to the formation of formaldehyde (HCHO) (Ravishankara, 1988 for a review). Once generated, HCHO reacts with OH[•] or is photodissociated. HCHO photodissociation is occurring under two competing pathways:



Given that the rate of *Reaction 2* is 2.5 folds more important than the rate of *Reaction 1*, H₂ and CO are typically the main end products generated (Calvert et al., 1972). δD of H₂ originating from the oxidation of CH₄ has been estimated by using different modelling approaches (Table 2.2). However, estimated δD have been recently challenged since the isotopic fractionation factors of the elementary steps of H₂ photochemical production are variable as a function of latitude and altitude (Mar et al., 2007).

NMHC, such as ethylene and terpenes, is a class of volatile organic compounds (VOC) originating from natural and anthropogenic processes. In remote locations, vegetation is the main source of NMHC (Guenther et al., 1995). Anthropogenic nature of the NMHC has been assessed in a survey realized in 28 cities of the United States where most of the detected NMHC were significantly correlated with CO, inferring the importance of the transportation sector on NMHC urban concentrations (Baker et al., 2008). Once emitted to the atmosphere, these trace gases are highly reactive and have short atmospheric lifetime in the order of few hours or less. Indeed, these compounds are

either photodissociated or oxidized by O_3 , OH^\cdot or NO_3 , generating end products such as O_3 , HCHO and secondary organic aerosols (Fuentes et al., 2000 for a review). Production of H_2 from the oxidation of NMHC occurs through the photodissociation of HCHO. It has been proposed that HCHO originating from the NMHC present in the snow cover is a source of atmospheric CO (Haan et al., 2001), but further works are needed to investigate the magnitude of these emissions and the occurrence of simultaneous H_2 emissions. δD of H_2 originating from the oxidation of the different NMHC species is not documented. It is then assumed that isotopic signature of H_2 originating from CH_4 and NMHC photochemical oxidation are similar (e.g. Price et al., 2007).

2.8.2 Industries and fossil fuels

H_2 is utilized in the chemical and petrochemical industries to produce ammonia, refined petroleum products, but also in metallurgic, electronic and pharmaceutical industries (Ramachandran and Menon, 1998; Olah et al., 2006). Tropospheric H_2 measurements realized in urban troposphere suggested that fossil fuels were the main source of H_2 . In urban areas, H_2 tropospheric concentrations follow a bimodal diurnal cycle, correlated with the morning and afternoon traffic peaks (Scranton et al., 1984a; Steinbacher et al., 2007). No assessments about the contribution of industries to the H_2 budget are currently available, but quantities of H_2 originating from industrial and fossil fuel, referred as the technological processes emissions, are estimated based on CO emission inventories and their corresponding H_2/CO emission ratios (Schmidt, 1974; Novelli et al., 1999; Hauglustaine and Ehhalt, 2002). Enhancement H_2 and CO pollution ratios ($\delta[H_2]/\delta[CO]$ where $\delta[X] = [X]_{\text{Measured}} - [X]_{\text{Background}}$) are also utilized to assess the urban origin of H_2 . In a long term monitoring of H_2 and CO concentrations measured above a forest canopy, calculation of $\delta[H_2]/\delta[CO]$ showed that polluted wind sectors had ratios of around 0.396, which is consistent with the ratio measured from automobile exhausts (Barnes et al., 2003). Accordingly, a typical $\delta[H_2]/\delta[CO]$ ratio from traffic of 0.33 was observed at a suburban site (Steinbacher et al., 2007). The attribution of the fossil fuel combustion origin of atmospheric H_2 is also assessed by measuring the isotopic signature of the detected H_2 . A comparison of the δD and concentrations of H_2 measured in air samples collected in parking garage, in urban area and in a clean air sampling site, it has been estimated that H_2 emitted from fossil fuel combustion have a δD of $-196 \pm 10\%$.

(Gerst and Quay, 2001).

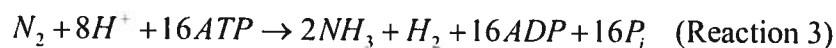
2.8.3 Biomass burning

Chemical characterization of experimental forest fire air masses suggested that for each emitted CO₂ molecule, 0.033 H₂ molecules were emitted, corresponding to a global H₂ emission factor around 9 to 21 Tg_(H₂) yr⁻¹ due to biomass burning (Crutzen et al., 1979; Crutzen and Andreae, 1990). Uncertainties in that term of the H₂ budget arise from the measured H₂:CO₂ ratio which is dependant of the combustion efficiency, a factor determined by the type of biomass and the nature of the combustion; smoldering or flaming combustions (Andreae and Merlet, 2001). The impact that biomass burning exerts on H₂ atmospheric burden have been observed during the long-term time series analysis of H₂, CH₄, CO₂ and CO global concentrations. Actually, the global trend of these trace gases was characterized by peak episodes in 1994-1995 and 1997-1998, corresponding to important forest fires caused by the drought conditions that occurred over these periods (Langenfelds et al., 2002). Emissions of reactive trace gases during wildfires episodes exerted a significant influence on the oxidative capacity of the troposphere. This influence was observed with the CO and aerosols emissions from the 1997 Indonesian wildfires that have caused a diminution of OH[·] concentrations over the Indian Ocean (Duncan et al., 2003). However, given the high tropospheric H₂ concentrations detected over these Indonesian burned areas (Sawa et al., 1999), H₂ photochemical oxidation may also have exerted an influence on the OH[·] burden. Determination of H₂ isotopic composition and concentrations from experimental fires revealed that H₂ originating from biomass burning had δD of -290±60‰, but this isotopic signature changes as a function of the tree species analyzed (Gerst and Quay, 2001).

2.8.4 Nitrogen fixation by-products

Production of H₂ as nitrogen (N₂) fixation by-products has been noticed during enzymatic assays involving purified nitrogenases. Further investigations showed that H₂ production is common among the leguminous symbiontes and that 20-60% of the electrons transferred to the nitrogenases were utilized to generate H₂ (Schubert and Evans, 1976). N₂-fixing microorganisms are widespread among physiologically distinct microbial group such as the anoxygenic phototrophs (*Rhodospirillum* spp., *Chromatium*

spp.), oxygenic phototrophs (*Anabaena* spp., *Nostoc* spp.) and heterotrophic bacteria (*Clostridium* spp., *Vibrio* spp., *Azotobacter* spp.) and are ubiquitous in the environment (Paerl, 1998). For each N₂ molecule fixed by the nitrogenase, one H₂ molecule is emitted:



It is believed that this apparent waste of protons resulting to H₂ evolution is attributable to the elimination of two hydrides species (hydrogen atom linked to a metal) within the nitrogenase, which is needed to generate unsaturated metals to bind and reduce N₂ (Ogo et al., 2004). Importance of N₂ fixation for tropospheric H₂ budget has been observed by measuring the H₂ soil to air exchanges in a variety of ecosystems. Contrary to a grassland, a field of leguminous plants acted as a net source of H₂ for the atmosphere (Conrad and Seiler, 1979; 1980). Indeed, H₂ emissions were attenuated following a cut of the tips of the leguminous plants or after soil amendments with assimilable nitrogen sources (Conrad and Seiler, 1979; 1980). Based on the annual H₂ fluxes measured in a leguminous field, it has been estimated that N₂ fixation emitted 2-5 Tg_(H₂) yr⁻¹ in the global atmosphere (Conrad and Seiler, 1980). No other attempts have been invested to verify these estimates and H₂ budget estimations are yet based on these measurements (Novelli et al., 1999; Rhee et al., 2006b). Otherwise, N₂ fixation term is simply neglected by assuming that H₂-oxidizing bacteria are consuming most of the H₂ in the ground before its loss to the atmosphere (Price et al., 2007). In fact, laboratory experiments have suggested that H₂ emitted from N₂-fixing nodules is consumed by H₂-oxidizing bacteria within 5 cm of the nodule surface (La Favre and Focht, 1983). The isotopic signature of H₂ emitted during N₂ fixation is still unknown but it is believed similar to the isotopic composition of H₂ analyzed from eutrophic pond waters, having a δD of -690‰ (Rahn et al., 2003).

2.8.5 Oceans

Water samples collected at different stations located in the Atlantic Ocean (Schmidt, 1974) and in the Mediterranean Sea (Scranton et al., 1982) revealed that surface waters were supersaturated with H₂. Vertical profiles of dissolved H₂ concentrations typically decreased with depth, but should also contain distinct zones

enriched with H₂, corresponding to biomass-rich zones (Schmidt, 1974). Depending on the studied sites, it was proposed that cyanobacteria or anaerobic microorganisms were responsible of the elevated dissolved H₂ concentrations detected. However, the few published data are limited to cultivation-based microbiological methodology (Scranton et al., 1984b; Schropp et al., 1987). No exhaustive characterization involving molecular-based methods have been conducted to correlate the presence of specific microorganisms with the H₂ high concentration zones.

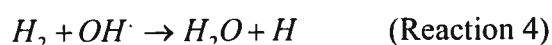
Assuming a uniform supersaturation of H₂ in the surface waters of the Earth's oceans, it has been estimated that the latter are responsible of 6% of the global H₂ emissions (Schmidt, 1974; Novelli et al., 1999; Rhee et al., 2006b). Further investigations are however needed to confirm the real importance of the oceans for tropospheric H₂ budget. Effectively, analyses of dissolved H₂ concentrations in salt marshes (Scranton et al., 1984b), Bermuda (Scranton, 1984), Arctic Ocean (Herr, 1984) and in the St. Lawrence River estuary (Punshon et al., 2007) showed that ocean waters can be undersaturated with H₂. By using the double layer model, it was estimated that the surface water near the Bermuda consumed and emitted atmospheric H₂ with exchanges rates between -5.2 μg m⁻² d⁻¹ (net sink) to 1.2 μg m⁻² d⁻¹ (net source) (Scranton, 1984). Given that the water filtrated onto 0.22 μm membranes lost its capacity to consume H₂, microorganisms should be involved in its oxidation within the water column (Schütz et al., 1988; Punshon et al., 2007).

2.9 H₂ sinks of atmospheric H₂

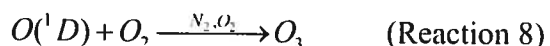
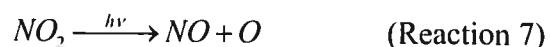
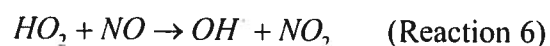
Once emitted in the atmosphere, H₂ as a lifetime of 1 – 2 years before being either oxidized by the OH[·] or consumed through a microbial-mediated soil uptake (Novelli et al., 1999; Hauglustaine and Ehhalt, 2002; Sanderson et al., 2003; Rhee et al., 2006b).

2.9.1 Oxidation by hydroxyl radicals

Because of its OH[·]-mediated oxidation reaction (Reaction 4), H₂ is not only involved in the control of the oxidative capacity of the troposphere but is also seen as an indirect greenhouse gas.



H₂ oxidation exerts indirect incidences on CH₄ and O₃ tropospheric concentrations, the latter being two greenhouse gases. Having an OH[·]-mediated oxidation rate similar to CH₄, the addition of H₂ in the atmosphere would diminish the availability of the OH[·] to oxidize CH₄, resulting to an increase of its atmospheric lifetime and then, its global warming potential. Furthermore, addition of H₂ in the atmosphere would generate reactive hydrogen atom (H[·]) originating from H₂ oxidation (*Reaction 4*), which is then entering in series of reactions (*Reactions 5-8*) resulting photochemical O₃ production (Seinfeld and Pandis, 1998):



In a global 3-D chemical transport model, it has been estimated that for an emission pulse of 1 Tg of H₂, global CH₄ and O₃ concentrations increased of 0.81 and 0.01 ppbv yr⁻¹ when the response was integrated for a 100 years period (Derwent et al., 2001). H₂ is also oxidized by other radicals such as O(¹D) and Cl[·], but these reactions are of minor importance in the troposphere. Since OH[·]-mediated H₂ oxidation is following a second-order reaction rate ($k_{OH} = 6.7 \times 10^{-15} \text{ cm}^3 \text{ molecule}^{-1} \text{ s}^{-1}$ at 298°K), the global amount of H₂ which is removed from the troposphere through *Reaction 4* (*Sink_{OH}*) is proportional to the OH[·] average concentration ($[OH]$) and the abundance of tropospheric H₂ ($H_{2(Burden)}$) (Novelli et al., 1999):

$$Sink_{OH} = k_{OH} \times [OH] \times H_{2(Burden)} \quad (\text{Equation 1})$$

A comparison of the OH[·]-mediated H₂ and deuterated species (DH) oxidation rates revealed that photochemical losses of H₂ enriched the troposphere with DH. The ratio k_{H_2}/k_{DH} , namely the H₂ fractionation factor α_{OH} was of 1.3 – 1.7 (Ehhalt et al., 1989; Talukdar et al., 1996).

2.9.2 Microbial soil uptake

Microbial-mediated H₂ soil uptake is the most important sink for atmospheric H₂ (Figure 2.2). H₂ soil uptake, or H₂ dry deposition, have been discovered more than three decades ago by enclosing a soil sample in a capped bottle into which a first-order decrease of the H₂ headspace concentrations was observed (unpublished results cited in Schmidt, 1974). The activity was then investigated for two different purposes: (1) to develop a monitoring strategy to assess vegetation exposure to tritium (TH) emissions originating from nuclear energy plants and (2) to characterize H₂ soil uptake activity and its response to environmental factors due to its importance in the H₂ biogeochemical cycle. Given that lettuces exposed to TH produced tritiated water, it has been previously proposed that the vegetation catalyzed an active TH uptake (McFarlane, 1978). Further works dedicated to partitioning the role of soil and vegetation tissues in the activity confirmed that H₂ uptake activity occurred mainly within the ground (McFarlane et al., 1978; Ichimasa et al., 1989b). It is noteworthy that lichens and mosses samples collected on pine bark oxidized TH gas, but the oxidation rates were negligible compared with soils' activity (Ichimasa et al., 1989a; Ichimasa et al., 1999). The weak TH lichens uptake observed should depend on growth requirements since H₂ emissions have been observed for N₂-fixing lichens (Millbank, 1982).

Following the first H₂ deposition velocities field measurements, soil uptake was considered as the main sink for tropospheric H₂ (Conrad and Seiler, 1980). The previous analyses realized to characterize TH soil uptake were then complemented in 1981, demonstrating that heat sterilization, absence of O₂ or the addition of antimicrobial agents to natural soils inhibited completely or partially their H₂ soil uptake activity (Conrad and Seiler, 1981; Conrad et al., 1983c). Given that soils chloroform, acetone or toluene fumigations inhibited only partially the H₂ and TH consumption, the activity was attributed to free soil hydrogenases (Conrad and Seiler, 1981; Ichimasa et al., 1988). Accordingly, partially-purified enzymes extracts catalyzing the H₂ uptake have been recently purified from soils, but the exact origin of the active enzymes remain unknown (Guo and Conrad, 2008). On another hand, chloroform fumigations applied to volcanic deposits diminished their H₂ uptake activity by 60-80%, suggesting that intact microorganisms rather than the free soil hydrogenases were responsible of most of the H₂

uptake activity (King, 2003a). Chloroform fumigation is a classic procedure utilized to estimate soil microbial biomass and partition free soil and intracellular enzymes. The results obtained with that method have to be carefully interpreted due to possible drawbacks related to the resistance of microorganisms. For instance, it has been observed that Gram positive bacteria are less sensitive to the chloroform fumigation treatment than the Gram negative bacteria (Zelles et al., 1997).

Despite the origin of the free soil hydrogenases or the microorganisms catalyzing H₂ soil uptake, the enzymatic nature of the activity was confirmed by incubating soil samples under different H₂ headspace concentrations. In these assays, soils consumed H₂ by following two distinct Michaelis Mentens kinetics having either a low affinity (K_m of around 1000 ppmv; threshold concentration > 1 ppmv) or a high affinity (K_m of 20-40 ppmv; threshold concentration < 0.1 ppmv) for H₂ (Conrad and Seiler, 1981; Häring and Conrad, 1994; Schuler and Conrad, 1990). Based on the latter threshold H₂ concentrations, only the microorganisms synthesizing the high affinity enzymes should be involved in atmospheric H₂ consumption.

To estimate the importance of soil uptake in the H₂ budget, H₂ deposition velocities measured at different times and locations were extrapolated to the global scale (Schmidt, 1974; Conrad and Seiler, 1980; Novelli et al., 1999). As described in the next sections, our limited knowledge about the microorganisms involved and the environmental factors influencing the activity is making difficult to model its spatial distribution. H₂ soil uptake isotopic fractionation factors α_{soil} of 0.94 have been observed in a northern boreal forest (Rahn et al., 2002a) as well as in mid-latitudes grasslands and a coniferous forest (Gerst and Quay, 2001). This similitude in the fractionation factors is important since it suggests that the same metabolic pathway is responsible of the tropospheric H₂ soil uptake occurring in different ecosystems.

2.10 H₂ concentrations in the environment

2.10.1 H₂ in the atmosphere

Because microbial-mediated H₂ soil uptake accounts for ~80% of the H₂ sinks, this activity exerts a significant effect on the spatial and temporal H₂ concentration distribution. Hence, the globally averaged tropospheric H₂ mixing ratio is minimal at the

end of the summer (450-520 ppbv) and reaches a peak in springtime (530-550 ppbv), owing to the effect of temperature on the metabolism of soils microbial populations involved in H₂ soil uptake (Novelli et al., 1999; Barnes et al., 2003). The amplitude of this seasonal variation was estimated to vary between 24 and 106 ppbv, but is less important in the southern than the northern hemisphere (N.H.) (Khalil and Rasmussen, 1990b; Novelli et al., 1999; Simmonds et al., 2000; Barnes et al., 2003). Although the major sources of H₂ are in the N.H., H₂ background concentrations are significantly lower in the northern than in the southern hemisphere (S.H.) (Novelli et al., 1999). This atypical distribution is attributable to the most important continental surface of the N.H., which represents a higher sink for H₂ than the S.H. It is also noteworthy that H₂ concentrations are decreasing, while the D/H of H₂ is enriched during the nocturnal inversions of the planetary boundary layer at sites acting as a net sink for H₂ (Rahn et al., 2002a). Microorganisms or free soil hydrogenases having a high affinity toward H₂ exert then a significant incidence on global and regional tropospheric H₂ concentrations.

There are no significant differences between the H₂ concentrations measured along the troposphere and the stratosphere (Schmidt, 1974; Zöger et al., 1999). This absence of concentration gradient suggests the presence of an equilibrium between the losses of H₂ following its oxidation by OH[•] and O(¹D), with a minor contribution from Cl[•] (Le Texier et al., 1988) and its production by CH₄ oxidation reaction chains (Hurst et al., 1999). Accordingly, even in the absence of H₂ concentration gradients, δD of H₂ shows a significant increase from tropospheric values of +130‰ at 12 km of altitude to more than +400‰ at 32 km in the stratosphere (Röckmann et al., 2003).

2.10.2 H₂ in aquatic environments

Dissolved H₂ concentrations that are measured in lakes, oceans and rivers are heterogeneous, in the range of 0.10 to 40 nM. Dissolved H₂ concentrations are influenced by the physical and chemical conditions of the water. Indeed, shallow lakes, wetlands and oceans waters may be undersaturated with H₂ ($[H_2]_{\text{Dissolved}} < 0.40 \text{ nM}$); with the exception of subsurface or surface concentrations maximum caused by microbial-mediated H₂ production (Scranton, 1984; Schropp et al., 1987). Freshwater lakes are also often supersaturated with respect to the atmosphere ($[H_2]_{\text{Dissolved}} > 0.40 \text{ nM}$), as it was the case for the Lake Constance where dissolved H₂ concentrations were positively correlated with

primary production and microbial activity (Schmidt and Conrad, 1993). Dissolved H_2 concentrations may follow well-defined diurnal cycle determined by the active microbial populations. Diurnal cycle observed in the euphotic zone of the Atlantic Ocean was characterized by H_2 maximal concentrations of 1.0 nM during daytime (Herr et al., 1984), while the dissolved concentrations followed the inverse trend in Lake Constance, where dissolved H_2 concentrations reached up to 6.0 nM at night (Scranton et al., 1984b). Indeed, daytime peak of dissolved H_2 concentrations was attributed to N_2 -fixing cyanobacteria, while nighttime maxima were attributed to the anoxic metabolism of photosynthetic bacteria in dark conditions (Herr et al., 1984; Scranton et al., 1984b).

In aquatic environments, trace gas exchanges occur by three different pathways: diffusion, ebullition and plant-mediated transport. Opposite to ebullition and plant-mediated transport, diffusive transfer is driven by the equilibrium of the gas between the interfaces. Ebullition occurs in the aquatic ecosystems having organic matter rich sediments. In these sediments, anaerobic organic matter decomposition is generating reduced gases such as CH_4 . The accumulation of biogenic gases generates bubbles that are moving within the sediments before being released to the water column and then, to the atmosphere. Plants-mediated transport occurs either by diffusion through the intercellular gas-filled spaces present throughout the plants or by convective through-flow induced by a differential of pressure within the plants (Arkebauer et al., 2001; Colmer, 2003). It has been estimated that more than 70% of the H_2 emissions occurring in shallow freshwater lakes are mediated by emergent vegetation, but on a global scale, this emission factor is negligible, accounting for $0.025 \text{ Tg}_{(H_2)} \text{ yr}^{-1}$ (Schütz et al., 1988). Even if the fermentation occurring in the anaerobic sediments generates important quantities of H_2 , diffusion along the sediments-water interface is not a significant source of H_2 for the water column. Indeed, dissolved H_2 concentrations detected in freshwater lake sediments ($[H_2]_{\text{Dissolved}}$ of 900 nM) were of 3-4 orders of magnitude higher than in the water column and no significant H_2 concentration gradients were observed between the sediments-water interfaces (Schütz et al., 1988). Ebullitive fluxes of H_2 are negligible. Investigations realized in shallow lakes and at stations localized on the St. Lawrence River showed that the air bubbles generated in sediments reaching the surface waters are mainly constituted of CH_4 and N_2 , with only trace levels of H_2 (Schütz et al., 1988; Poissant et al., 2007).

The H₂ generated in the sediments is an important intermediate in the organic matter oxidation coupled to the reduction of inorganic electrons acceptors and its level is tightly regulated.

2.11 Microbial soil uptake: a limitation of the H₂ distribution models

Even if dry deposition is the most important sink for tropospheric H₂, the exact origin of the activity remains elusive. H₂ soil uptake has been observed on arid soils, arable soils, and in forests, demonstrating its ubiquity in the environment. Opposite to tropospheric OH[•] concentrations distribution and photochemistry, microorganisms involved in H₂ soil uptake and the environmental factors that are regulating their activity are poorly known. H₂ dry deposition parameters entered in H₂ concentration distribution models are limited by the few annual H₂ surface to air exchanges field observations that have been realized in Germany (Conrad and Seiler, 1980), in Canada (Constant et al., 2008a) and in Japan (Yonemura et al., 2000a) (Tableau 2.3). In a three-dimensional chemistry transport model, where the parameterization of the H₂ dry deposition parameter was realized with net primary production (NPP) data, H₂ soil uptake occurring in the N.H. appeared underestimated (Hauglustaine and Ehhalt, 2002). Indeed, modeled H₂ distribution agreed with the measured concentrations once the wintertime H₂ deposition velocity was increased by 15% in the northern hemisphere (Hauglustaine and Ehhalt, 2002). Further annual field measurements of H₂ surface to air exchanges are needed, especially in arctic, subarctic and tropical ecosystems. These data would improve the H₂ dry deposition parameter entered in H₂ concentration distribution models.

Table 2.3. H₂ dry deposition velocities (D_v) measured in different ecosystems by using flux chamber and micrometeorological methods.

H ₂ D _v (cm s ⁻¹)	Site and method	References
0.00 – 0.07	Grass and clover fields (Germany), closed-chamber (1 year)	Conrad and Seiler, 1980
0.12 – 0.14	Barren soil (Spain), semi desert/savanna (South Africa), closed-chamber (sporadically Sept-Feb)	Conrad and Seiler, 1985
0.00 – 0.10	Andisol (Japan), open-flow chamber (1 summer)	Yonemura et al., 1999a
0.00 – 0.09	Arable field, forest of pine and deciduous trees (Japan), closed-chamber (1 year)	Yonemura et al., 2000a
0.00-0.07	Boreal forest (Finland), closed-chamber (1 year)	Lallo et al., 2008
0.00 – 0.33	Rural area (Canada), micrometeorology (1 year)	Constant et al., 2008a

2.11.1 Deposition of H₂ measured in the environment

Biogenic trace gases fluxes are the result of concomitant chemical, physical and biological processes. While chemical and biological reactions are producing and consuming trace gases, physical parameters such as presence of water, are often important limiting factor of the exchanges within the interfaces. For a poorly soluble gas, such as H₂, presence of water is diminishing its molecular diffusion from the atmosphere to the soil. Molecular diffusion is a process for which trace gas is transferred between the interfaces by following its concentration gradient and its resistance. Trace gas diffusive flux (F) can be estimated by using the two-layer model (Liss and Slater, 1974):

$$F = k \times (C_w - C_a \frac{R \times T}{H}) \quad (\text{Equation 2})$$

where k (m h⁻¹) is the exchange coefficient of the trace gas for a defined interface, C_w (μg m⁻³) is the trace gas concentration in the surface waters, C_a (μg m⁻³) is the trace gas

atmospheric concentration, R ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) is the constant of ideal gases, T (K) is the temperature at the water-air interface and H ($\text{Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$) is the Henry constant of the trace gas. In the case of air-water exchanges, the molecular diffusion coefficient is a combination of the trace gas resistance within gaseous and liquid phases (Liss and Slater, 1974). For H_2 , gaseous resistance is negligible and then, k reflects mainly its resistance in the aqueous phase. The k exchange coefficient is enhanced with turbulence engendered by the wind and can be estimated by using experimental relationships established with chemically inert tracers (Poissant et al., 2000; Punshon et al., 2007). Due to the ubiquitous biological production and consumption of H_2 , field measurements have revealed that H_2 does not meet the requirements for the double layer model utilization (Schütz et al., 1988; Punshon et al., 2007). Therefore, H_2 production and consumption rates terms have to be added in *Equation 2*:

$$F = k \times (C_w - C_a \frac{RT}{H}) + P_{insitu} - L_{insitu} \quad (\text{Equation 3})$$

where P_{insitu} is the H_2 production rate ($\mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), L_{insitu} is the first order H_2 consumption rate ($\mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). If an emission is measured (F is positive), the studied surface is then considered as a *net* source of H_2 . However, equilibrium between H_2 production and consumption rates may also occur so that the result of both processes is a zero flux. In this case, the level of the studied gas reached its compensation concentration (Conrad, 1994 for a review). This equilibrium is due to the existence of a threshold concentration below which no more microbial-mediated uptake occurs, while the production reactions of the trace gas is not affected. Therefore, compensation concentration measured at a given ecosystem is reflecting the magnitude of both the production and consumption processes.

H_2 surface to air exchanges have been realized in ecosystems by using flux chamber and micrometeorological techniques (Table 2.3). Given that H_2 soil uptake occurs by following a first-order kinetic, direct flux measurements have to be normalized with the ambient H_2 concentration and then expressed in term of net deposition velocity (v_n):

$$v_n = \frac{F}{\rho C_{atmos}} \quad (\text{Equation 4})$$

where F is the flux ($\mu\text{g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), ρ is the conversion constant (ppbv to $\mu\text{g m}^{-3}$) and C_{atmos} is

the atmospheric concentration (ppbv). This normalization is crucial to compare H₂ surface to air exchanges measured at different locations exposed to site-specific H₂ concentrations or in models assessing the impact of increasing atmospheric concentrations (Müller, 1992). *Equation 4* is utilized to compute the H₂ fluxes measured by using open flux chamber or micrometeorological methods. If a closed flux chamber is utilized, one have to consider the initial H₂ concentration $C_{initial}$ which can be either higher or smaller than the real C_{atmos} and only gross deposition velocities (V_g) can be derived:

$$v_g = \frac{F}{\rho(C_{initial} - C_{equiv})} \quad (\text{Equation 5})$$

where C_{equiv} is the compensation concentration in the soil. H₂ deposition velocities between 0 and 0.33 cm s⁻¹ have been reported in literature (Table 2.3). Deposition velocity is typically attributed to the aerodynamic and surface resistance, but in the case of H₂ soil uptake, it is also referring to microorganisms' metabolic state in the ground.

2.11.2 Environmental factors influencing the H₂ exchanges

2.11.2.1 Soil water content

Due to physical constrains, soil water content is an important factor determining if a site acts as a net source or a net sink of H₂. Laboratory-scale experiments revealed that the activity was optimal when soils had water content between 6 and 20% (Conrad and Seiler, 1981; Smith-Downey et al., 2006). The utilization of a diffusion model and laboratory experiments data showed that soil's water content, air-filled porosity and depth of the inactive layer were the limiting factors for the transfer of atmospheric H₂ to the soil, for a given H₂ oxidation rate (Yonemura et al., 2000c). Accordingly, H₂ micrometeorological fluxes measured in grassland followed a well-defined diurnal cycle into which H₂ soil uptake was significantly correlated to water evaporation most likely due to an increase of soil air filled porosity owing to H₂O evaporation (Constant et al., 2008a).

2.11.2.2 Soil temperature

The influence that temperature exerts on H₂ soil uptake activity has been assessed during field and laboratory observations. In laboratory, soil samples exposed to 1.6 ppmv

of H₂ had optimal H₂ uptake activity between 10 and 30°C, but substantial H₂ uptake continued at -4°C and was eliminated at -15°C, especially in the case of soils originating from a boreal forest (Smith-Downey et al., 2006). In the latter experiments, H₂ soil uptake activity increased exponentially between -4°C and 0°C, followed by a slight increase between 0 and 10°C and remained relatively unchanged up to 30°C (Smith-Downey et al., 2006). Therefore, the northern ecosystems are potential sinks for tropospheric H₂ during the warmer part of the winter, but further investigations are needed to verify this hypothesis and investigate the influence of the snow cover which should limit the diffusion of H₂. By exposing soil samples collected in German forests and gardens to ambient and elevated H₂ concentrations and temperature between 5 and 60°C, two distinct H₂ soil uptake optimal temperatures were observed: at 35-40°C for the high affinity activity and 50-60°C for the low affinity activity (Schuler and Conrad, 1991). In field experiments realized in Japan (mean annual temperature of 13°C), measured H₂ soil uptake rates were not linked to soil temperature seasonal variations, but were under the control of soil water content (Yonemura et al., 2000a). Accordingly, summertime H₂ deposition rates measured in subtropical regions (air temperature 23-46°C) were not correlated to soil temperature (Conrad and Seiler, 1985).

2.11.2.3 Soil pH

The pH influences on H₂ soil uptake have been investigated for soil samples having different properties. As observed in the case of soil temperature, low and high affinity H₂ uptake activities have different pH optima. For the high affinity activity, the analysis revealed that pH optima were similar to the *in situ* soil pH: pH 8 in alkaline garden soil and pH 5 in acidic soil (Schuler and Conrad, 1991). Conversely, two pH optima were observed for the acidic soil (one at pH 4 and a second at pH 6.4-7.0) exposed to high H₂ concentrations, suggesting the occurrence of two different populations of H₂-oxidizers having a low affinity for H₂ (Schuler and Conrad, 1991). The influence of soil pH on H₂ soil uptake was however less evident during field measurements (Schuler and Conrad, 1991). This lack of relationship between seasonal variations of soil pH and H₂ soil uptake should be caused by the concomitant variations of soil water content. Indeed, an analysis of the H₂ consumption activities of different soils revealed that the activity was correlated to the pH when the water content was adjusted to 60% of the soil water-

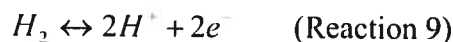
holding capacity (whc), while no correlations were observed when the water content was adjusted to 30% of soil whc (Gödde et al., 2000).

2.11.2.4 Soil organic content

H₂ flux measurements at different sites located along recent volcanic deposits suggested that organic carbon was an important parameter influencing the atmospheric H₂ soil uptake (King, 2003a; King and Weber, 2008). Calculation of percent contribution of H₂ to soil respiration suggested that H₂ soil uptake was most important when organic carbon was limiting (King, 2003a). As it is the case for the pH, further investigations are needed to confirm the importance of soil organic carbon content since other field studies revealed either no significant (Conrad and Seiler, 1985), or significant (Rahn et al., 2002a) correlations between soil organic content and H₂ soil uptake.

2.12. Microbial utilization and production of H₂

Described for the first time in 1931 (Stephenson and Stickland, 1931), hydrogenases are metalloenzymes catalyzing the reversible oxidation of H₂:



Hydrogenases are found in prokaryotes, in archaea, and in the hydrogenosomes of some unicellular eukaryotes such as protists and fungi (Biagini et al., 1997) as well as in the chloroplast of some green algae (Schnackenberg et al., 1993). Organisms synthesizing these enzymes use H₂ as an energy source (H₂-uptake, H₂ oxidation) or produce H₂ from protons to neutralize the excess of reducing equivalents and stabilize their intracellular pH. The localization of hydrogenase reflects its physiological function: H₂ production occurs generally in the cytoplasm while H₂ uptake occurs within the periplasmic space or within the membrane. Even if the hydrogenases are synthesized by physiologically distinct groups of microorganisms, these metalloenzymes are falling into one of the three types of hydrogenases that are differentiated by the constitution of their catalytic site: [NiFe]-, [FeFe]- and [iron-sulfur cluster-free]-hydrogenase. Comprehensive articles assessing hydrogenases structure and biochemistry (Fontecilla-Camps and Ragsdale, 1999; Evans and Pickett, 2003), phylogeny (Vignais et al., 2001) and regulation (Böck et al., 2006; Leach and Zamble, 2007) are available for interested readers.

[FeFe] hydrogenases are constituted to one or two subunits and are generally synthesized by anaerobic bacteria and unicellular eukaryotes to generate H₂. [NiFe]-hydrogenases are synthesized by archaea and bacteria in presence or absence of O₂. The physiological function of these enzymes is generally the oxidation of H₂, but there are few exceptions where [NiFe]-hydrogenases are involved in H₂ production. Given that [NiFe]-hydrogenases are less sensitive to O₂ than the [FeFe]-hydrogenases, microorganisms consuming H₂ in aerobic conditions utilize the [NiFe]-hydrogenases. Biochemistry of the [iron-sulfur cluster-free]-hydrogenase has been recently assessed (Shima and Thauer, 2007). This is a cytoplasmic enzyme found in methanogenic archaea which is catalyzing an intermediate step in CO₂ reduction with H₂ generating CH₄ (Zirngibl et al., 1990). Microorganisms synthesizing the [FeFe]- and [iron-sulfur cluster-free]-hydrogenases are then usually involved in H₂ production within the sediments and anaerobic micro habitats, while those synthesizing the [NiFe]-hydrogenases are found in anaerobic and aerobic environments where they are generally limiting the flux of H₂ to the atmosphere. Even if tropospheric H₂ soil uptake is attributed to the activity of high affinity hydrogenases, the latter have never been purified from soil or pure cultures.

2.12.1 Affinity for H₂

The affinity of the hydrogenases for H₂ is very important to determine the function of the microorganisms in the global biogeochemical cycle of H₂. Given the importance of microbial-mediated H₂ soil uptake, efforts have been investigated to characterize H₂ consumption activity in the presence of O₂. In soil, two different H₂ consumption activities are distinguished based on their affinity for H₂.

Microorganisms having a low affinity for H₂ (K_m ~1000 ppmv) are the best documented. Among these microorganisms, knallgas bacteria are mostly facultative chemolithotrophs that are expressing their hydrogenases to obtain energy under specific conditions such as substrate limitation (Aragno, 1998). Having a low affinity for H₂, knallgas bacteria are not involved in the consumption of tropospheric H₂ (Conrad et al., 1983b). The ecological importance of these microorganisms relies on their ability to oxidize the H₂ diffusing from the legume nodules constituted of N₂-fixing microorganisms that are lacking the uptake hydrogenase enzymes. Since an exposure of soil samples to high H₂ concentrations (>600 ppmv) exerted benefits for plant growth, it

has been proposed that these microorganisms also exerted a fertilization effect in soils (Dong et al., 2003). Accordingly, recent investigations showed that H₂-enriched soil promoted the emergence of H₂ oxidizing bacteria such as *Variovorax* sp. and *Flavobacterium* sp. that are reducing the ethylene concentrations within the rhizosphere, promoting nodule formation and then, plant growth (Maimaiti et al., 2007; Stein et al., 2005).

Other aerobic microorganisms such as N₂-fixing bacteria and photosynthetic bacteria are utilizing H₂ in their metabolism (Friedrich and Schwartz, 1993), but their hydrogenases have an affinity of 1-2 orders of magnitude lower than those measured for natural soil or water (Table 2.4). H₂ soil uptake is attributed to free soil hydrogenases and unknown microorganisms, both having an extremely high affinity for H₂. Given that the inoculation of sterile soils with knallgas bacteria (Schuler and Conrad, 1990) or iron-reducing bacteria (Klüber and Conrad, 1993) does not establish the high affinity H₂-oxidation, stabilization and modification of the catalytic activity of the low affinity hydrogenases by the soil matrix is not responsible of the activity. Identification of the microorganisms involved in tropospheric H₂ uptake activity is needed to characterize their H₂ metabolism and the environmental factors that are influencing the expression of their high affinity hydrogenases. As it is the case in the sediments, these high affinity microorganisms are important to limit the diffusion of H₂ produced in the soil to the atmosphere.

Even if important quantities of H₂ are generated in anoxic and anaerobic sediments, the latter are neither a significant source of H₂ for the water column or the atmosphere due to the existence of anaerobic and anoxic H₂-oxidizing microorganisms (Table 2.5). Indeed, organic matter fermentation generates H₂ which is then utilized as electron sources for a variety of oxydoreduction reactions. This H₂-recycling is crucial for the fermentation reactions since these reactions are becoming endodermic when H₂ levels reach a critical threshold. Syntrophic associations between fermentative and H₂-oxidizing bacteria are establishing equilibrium: H₂ concentrations are maintained at a threshold prescribed by the final electron acceptor of the H₂-oxidizing microorganisms (Table 2.5). It is then possible to infer which final electron acceptor is dominating at a given site by analyzing the dissolved H₂ concentrations (Cord-Ruwisch et al., 1988; Lovley and

Goodwin, 1988; Lovley et al., 1994; Hoehler et al., 1998). Although nitrate-, iron- and halogen-respiring bacteria have low H₂ threshold (Table 2.5), their importance in tropospheric H₂ soil uptake is currently considered negligible due to their juxtaposition under the superficial aerobic soil layers. Actually, tropospheric H₂ diffusion across soil's aerobic/anaerobic interface and competition between aerobic and anaerobic H₂-oxidizing bacteria remain yet to be investigated. Nitrate-, iron- and halogen-respiring bacteria oxidize H₂ under anoxic conditions, while tropospheric H₂ soil uptake is noticeably reduced in absence of O₂ (Conrad and Seiler, 1981; Conrad et al., 1983c). In the context of H₂ biogeochemical cycle, these microorganisms are reducing the H₂ emissions to the water column and to the global atmosphere.

2.12.2 *Streptomyces* sp. PCB7: a model microorganism

Our group has recently isolated *Streptomyces* sp. PCB7, the first microorganism demonstrating the capacity to consume tropospheric H₂ in presence of O₂ (Constant et al., 2008b). *Streptomyces* sp. PCB7 has a H₂ consumption activity that follows a Michaelis-Menten kinetic, with a K_m of 11 ppmv and an H₂ threshold concentration of 0.100 ppmv, corresponding to the affinity attributed to the hypothetical free soil hydrogenases involved in tropospheric H₂ soil uptake (Table 2.4). H₂ consumption is a secondary metabolism occurring during the sporulation period of the bacteria. It has been suggested that H₂ is an energy source for the microbial cell survival (Morita, 2000), but the hypothesis needs to be verified in further laboratory experiments. Nickel induction of the activity suggests that the enzymes involved in H₂ consumption of strain PCB7 belong to the NiFe uptake class of hydrogenases.

Strain PCB7 has been isolated by using an innovative strategy. In microcosms open to the atmosphere, the simultaneous monitoring of the H₂ consumption activity and the microbial population structure was performed during the colonization of soils samples by microbial soil extracts. The method enabled correlating the emergence of the H₂-oxidizer candidates with the maturation of the H₂ soil uptake activity. Exposition of soil samples to ambient H₂ concentrations was essential to enrich a consortium having a high affinity for H₂. Actually, utilization of high H₂ concentrations is leading to an inevitable enrichment of the low affinity H₂-oxidizing microorganisms (Stein et al., 2005; Maimaiti et al., 2007). The utilization of the strategy described in details by Constant et al. (2008b)

for soils collected in different ecosystems will certainly result in the identification of other microorganisms having a high affinity for H₂.

Table 2.4. H₂ affinity of microorganisms catalyzing the H₂ oxidation under aerobic conditions.

Microorganisms/Environmental samples	Threshold (ppmv)	K _m (ppmv)	References
Environmental samples			
Soil	<0.100	10-50	Conrad, 1996
0.2-3 µm particles (freshwater lake)	N/A	90	Conrad et al., 1983a
Extracted soil enzymes	N/A	5.0	Guo and Conrad, 2008
<i>Streptomyces</i> sp. PCB7	<0.100	11	Constant et al., 2008b
Knallgas bacteria			
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	>0.500	1200	Klüber and Conrad, 1993
<i>Paracoccus denitrificans</i>	0.830	1565	Häring and Conrad, 1991
<i>Variovorax</i> sp.	N/A	1000	Maimaiti et al., 2007
<i>Flavobacterium</i> sp	N/A	1000	Maimaiti et al., 2007
<i>Burkholderia</i> sp.	N/A	1000	Maimaiti et al., 2007
<i>Ralstonia eutrophus</i>	8.0	>1000	Conrad et al., 1983b
<i>Xanthobacter</i> spp.	1.3-6.7	>1000	Conrad et al., 1983b
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	~1.0	N/A	King, 2003b
Photosynthetic bacteria			
<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>	N/A	330	Colbeau and Vignais, 1981

Table 2.5. H₂ affinity of microorganisms catalyzing the H₂ oxidation under anoxic and anaerobic conditions.

Terminal electrons accepting reaction	Threshold (ppmv)	K _m (ppmv)	References
Arsenate reduction	0.04-0.12	N/A	Heimann et al., 2007
Chromium reduction	0.07 (DL)	N/A	Marsh and McInerney, 2001
Halorespiration	0.07-3.0	130 ±65	Smatlak et al., 1996; Löffler et al., 1999; Kassenga et al., 2004; Luijten et al., 2004; Heimann et al., 2006
Nitrate reduction	<0.07	N/A	Lovley and Goodwin, 1988
Manganese(IV) reduction	<0.07	N/A	Lovley and Goodwin, 1988
Iron(III) reduction	0.30-0.50	319	Lovley and Goodwin, 1988; Lovley et al., 1989; Klüber and Conrad, 1993
Sulfate reduction	1.3-2.0	1300-1600	Kristjansson et al., 1982; Robinson and Tiedje, 1984; Lovley and Goodwin, 1988
Methanogenesis	60-90	8000-17400	Kristjansson et al., 1982; Robinson and Tiedje, 1984; Lovley, 1985
Acetogenesis	180	6682	Hoehler et al., 1998; Krumholtz et al., 1999

2.13 Impacts of a future H₂-based economy on the oxidative capacity of the troposphere

H₂ is a promising clean energy source. The replacement of fossil fuels by H₂ fuel cells technology would result in considerable reductions in urban pollution from nitrogen oxide gases (NO_x) and black carbon. However, as observed in the case of petroleum,

infrastructures devoted to H₂ production, storage and transport may become a significant source of this trace gas to the global atmosphere. H₂ emissions resulting from that future energy sector are very difficult to predict and are strongly debated (Schultz et al., 2003; Tromp et al., 2003; Warwick et al., 2004). Despite of the exact amount of H₂ that would be emitted in the future, actual knowledge about the H₂ biogeochemical cycle is still insufficient to predict the link between atmospheric H₂ concentrations and a modification of its global emission factor. It is then crucial to characterize the reactions involved in its production and its loss from the atmosphere. Following an understanding of these reactions, threshold H₂ emission factors would be established to minimize the effects of a future H₂-based economy. So far, the utilization of model scenarios inferring a global increase H₂ emissions and a steady H₂ soil uptake suggested that a future H₂-based economy would increase stratospheric water concentrations and increase the atmospheric lifetime of CH₄.

Based on a scenario inferring a global H₂ atmospheric concentration of 2.3 ppmv (more than 4 folds higher than the actual concentration) and the actual level of CH₄, it has been proposed that the abundance of stratospheric water vapour would increase by 30% at high latitudes (Tromp et al., 2003). The latter increase of water vapour would cause a cooling of the stratosphere and also a decrease of O₃ concentrations. This model established by Tromp et al. (2003) was controversial due to the high H₂ leakage rate assumed (10-20% of the production), and the omission of the diminution of fossil fuel emissions accompanying the future H₂-based economy. Indeed, even if the 10-20% emission increase suggested by Tromp et al. (2003) was kept, water vapour stratospheric concentrations increased by a factor <10% in another modeling approach considering changes in fossil fuel by-products emissions (Warwick et al., 2004). Approaches including the lowering of fuel fossil use due to the emergence of H₂ utilization suggested that an H₂-based economy would influence the oxidative capacity of the troposphere. For instance, in a model considering a 50% reduction of CO and NO_x emissions due to the replacement of fossil fuels by H₂ (leakage rate of 3%), the CH₄ tropospheric lifetime increased by 0.55-2.0 years (Schultz et al., 2003). This change in tropospheric lifetime was attributed to the diminution of OH' atmospheric burden due to the 50% reduction of NO_x emissions, which is an O₃ precursor (Schultz et al., 2003; Warwick et al., 2004).

Even if prediction of the future H₂ emissions has large uncertainties, these models demonstrated that the influence of the future H₂-based economy on the oxidative capacity of the troposphere will depend on H₂ leaks during its production, storage and transport, but also on the extent of the CO, CH₄, NMHC and NO_x emissions diminution. However, considering the importance of microbial-mediated H₂ soil uptake, their response to global changes has to be considered in future researches.

2.14 Future researches

Considering the ongoing global change and the anticipated H₂-based economy, future investigations should be designed to assess the impact of a modification of the H₂ global emission factor to its background atmospheric concentrations. Owing to the importance of microbial-mediated H₂ soil uptake, interdisciplinary approaches combining H₂ fluxes measurements to microbial ecology would be particularly valuable contributions. Since annual H₂ surface to air exchange time series are limited to four temperate sites, other sites representative of the arctic, subarctic and tropical ecosystems should be investigated. Following these field measurements, it would be possible to identify the key environmental parameters controlling H₂ soil uptake and then, improve H₂ global concentrations distribution models. For each investigated site, the identification and the isolation of microorganisms having high affinity toward H₂ are also essential. The purification and the characterization of their high affinity hydrogenases will be the crucial step before the development of molecular tools to investigate the ecology of these microorganisms that are representing a great potential for the field of electrochemistry.

2.14.1 Assessing the impact of climate and land-use change

Actual models predict future trend of tropospheric H₂ concentrations by assuming that H₂ dry deposition will remain constant (Schultz et al., 2003; Tromp et al., 2003; Warwick et al., 2004). Considering that H₂ soil uptake is dependant on both microbial activity and H₂ resistance through the interfaces, the latter assumption remains uncertain. Researches dedicated to analyze the response of global H₂ soil uptake to (1) increasing soil respiration and land-use change, (2) the atmospheric CO₂ fertilization effect, (3) the melting of the permafrost and (4) change in aquatic environments are especially required.

Climate and land-use changes are influencing trace gases biogeochemical cycle.

For instance, it has been estimated that land-use changes that have occurred from 1850 to 1990 added 124 Pg (1 Pg = 10^{15} g) of carbon in the atmosphere, which is almost 50% of the carbon emissions attributed to the fossil fuel combustion (Houghton, 1999). It is anticipated that global warming and CO₂ fertilization effect will increase the global NPP, while land-use change will promote the global CO₂ net emission rates (Müller et al., 2007). Even if the link between soils' carbon pool and H₂ surface to air exchanges is poorly documented, available data have shown that H₂ soil uptake is inversely proportional to CO₂ net emissions. Effectively, soil samples collected along a gradient of volcanic deposits demonstrated a more important H₂ soil uptake when soils organic carbon content and respiration were reduced (King, 2003a; King and Weber, 2008). Accordingly, a comparison of the H₂ and CO₂ micrometeorological fluxes measured in a rural area reveals that the latter were inversely correlated (Figure 2.3). Indeed, optimal H₂ soil uptake is known to occur in fall, during the vegetation senescence (Constant et al., 2008a). In the case of *Streptomyces* sp. PCB7, the first isolated bacterium consuming ambient H₂, its consumption activity is a secondary metabolism inhibited in glucose-rich media (Constant et al., 2008b). Taken together, these observations are motivating researches to verify if the increasing CO₂ emissions resulting from land-use and climate changes would be accompanied by a diminution of the H₂ soil uptake activity. In that context, H₂ surface to air exchanges measurements along ecosystemic boundaries and laboratory scales experiments to test the impact of soils' nutrients amendments on microbial-mediated H₂ soil uptake would be beneficial.

The increase of CO₂ atmospheric concentrations is known to exert a CO₂ fertilization effect (e.g. Piao et al., 2006) which is favouring the growth of vegetation, depending on soils nutrients availability. For instance, it has been observed that N₂-fixing plants were advantaged under elevated CO₂ concentrations in the presence of non limiting amounts of the trace elements constituting the active site of the nitrogenases (Joel et al., 2001; Hungate et al., 2004; van Groenigen et al. 2006). The response of the vegetation cover to CO₂ fertilization and global changes is very difficult to predict but in the case of an emergence of these N₂-fixating vegetations, nodule-mediated H₂ production would release more H₂ to the atmosphere, especially in the case of plants with superficial rhizosphere. Further laboratory scale experiments are needed to test this hypothesis,

combining the simultaneous monitoring of H₂ exchanges and microbial population structure in enclosures where N₂-fixing vegetation is exposed to high levels of CO₂.

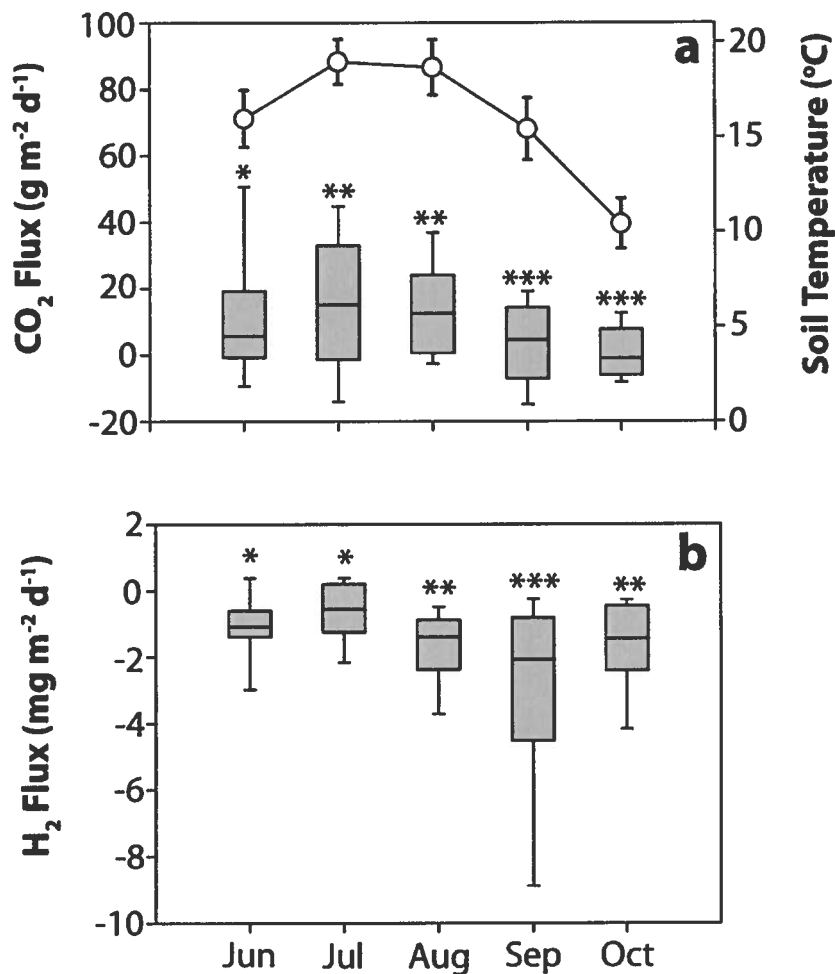


Figure 2.3. Box diagrams of the (A) CO₂ and (B) H₂ micrometeorological fluxes measured during the summer in a temperate grassland. Each box has a line at the median value, while the bottom and the top are the 25th percentile and the 75th percentile, respectively. Dotted lines represent the monthly mean soil temperature. Significant differences between the fluxes are denoted by different superscript symbols (*, ** and ***). Differences were assessed by a one way ANOVA analysis followed by a comparison of the means for each pairs of temperature interval with a t-test ($\alpha = 0.05$). The data utilized were taken from the dataset utilized for a published H₂ and CO₂ fluxes time series (Constant et al., 2008a).

Another important issue to consider is the current and the future role of the northern ecosystems for tropospheric H₂ budget. The ongoing warming of these regions has already exerted a modification of the vegetation cover as well as the thawing of the permafrost. Thawing permafrost is releasing significant quantities of CO₂ and CH₄ due to the decomposition of their carbon pool, but there is currently no field measurements concerning H₂. Simultaneous surface to air H₂ flux measurements and microbial population analyses are needed to investigate the presence and the activity of H₂-oxidizing microorganisms limiting the H₂ emissions in these ecosystems. Even if the melting of the permanent snow cover has been associated to an increase of the potential H₂-consuming areas (Rahn et al., 2002a), investigations are needed to observe the short- and long-term effect of the melting permafrost in respect of H₂ surface to air exchanges.

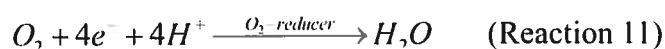
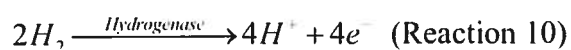
Although surface waters from Atlantic Ocean, Arctic Ocean and the St. Lawrence River estuary were undersaturated in H₂, the oceans are still considered as a net source for H₂, based on a previous assessment (Schmidt, 1974). Investigations dedicated to measure sea-air H₂ exchange rates are then needed to confirm the role of oceans in H₂ biogeochemical cycle. Given that H₂ supersaturations were often observed when biomass was maximal, environmental parameters favoring the emergence of microorganisms should influence the H₂ budget. For instance, erosion of the continental shelf, the addition of nutrients and warming of the oceans may conduct to more H₂ emissions to the atmosphere. As in the case of the melting permafrost, investigations combining H₂ water to air exchanges, dissolved H₂ concentration profiles and microbiological analyses would be beneficial. These efforts would allow an identification of the microorganisms that are producing and consuming H₂ as well as the environmental factors that are influencing their activity and their geographical distribution.

2.14.2 Identification of microorganisms having a high affinity for H₂

So far, only *Streptomyces* sp. PCB7 has demonstrated a high-affinity uptake H₂ of tropospheric H₂ (Constant et al., 2008b). Besides the purification of the high affinity hydrogenases synthesized by strain PCB7, the identification of other H₂-oxidizing candidates is needed to verify if the H₂ consumption activity is observed among physiologically distinct groups of microorganisms. Afterwards, molecular tools would be developed to investigate the metabolism, the diversity and the ecological importance of

the microorganisms having a high affinity for H₂ in the environment.

Microorganisms having a high affinity for H₂ have also a great biotechnological potential in the bioelectrochemical fuel cell sector. Indeed, it has been already demonstrated in the laboratory that hydrogenases coated anode and O₂-reducing enzymes coated cathode submerged in an electrolytes mixture bubbled with H₂ and air generated electricity (Vincent et al., 2005a, 2005b). At the anode, hydrogenases are catalyzing the H₂ oxidation which is generating electrons and protons. Electrons are transferred to the cathode through an external circuit. At the cathode O₂-reducing enzymes are catalyzing the O₂ reduction, consuming the protons liberated in the electrolyte solution:



In these biofuel cells, the hydrogenases have to be O₂ tolerant. O₂ tolerance has been tested in biofuel cells having an anode coated with the hydrogenases of *Thiocapsa roseopersicina* (Morozov et al., 2006) or *Ralstonia eutropha* H16 (Vincent et al., 2005a), and both enzymes catalyzed the H₂ oxidation at O₂ concentrations of 20%. It is noteworthy that all the hydrogenases utilized so far in the biofuel cells have a low affinity for H₂. The high affinity hydrogenases involved in H₂ soil uptake are then promising to improve the existing biofuel cells. Since H₂ soil uptake occurs in the presence of O₂, one should expect that the involved hydrogenases are O₂-tolerant, and would increase the yield of the H₂-biofuel cells. Indeed, in the case of a H₂-biofuel cell having an anode coated with the hydrogenases of *Ralstonia metallidurans* CH34, generation of electricity was possible by using an air mixture enriched with 3% of H₂ (Vincent et al., 2006). Considering the extremely high affinity of the hydrogenases involved in tropospheric H₂ soil uptake, it is reasonable to expect that H₂ concentrations lower than 1% should be sufficient to generate electricity.

2.15 Concluding remarks

The utilization of H₂ as an alternative energy source should exert a significant impact on H₂ atmospheric burden and then, on the oxidative capacity of the troposphere. Even if the main sources and sinks of H₂ have been identified, actual knowledge is

insufficient to predict the link between atmospheric H₂ concentrations and a modification of its global emission factor. Researches dedicated to H₂ surface to air exchange measurements in arctic, sub-arctic and tropical ecosystems are needed to investigate the extent and the environmental factors controlling the seasonal variations of the H₂ deposition velocity. The role of the oceans in the H₂ budget has to be examined since their contribution is currently based on previous estimates that are assuming a uniform H₂ supersaturation of the oceanic surface waters. Indeed, investigations realized in different aquatic environments have shown that H₂ is actively produced and consumed in the water. Multidisciplinary investigations combining H₂ surface to air exchange measurements to molecular and classical microbiology analyses are especially required. Knowledge about the microorganisms and environmental factors controlling the H₂ soil uptake activity will considerably improve the models assessing the impact of a future H₂-based economy on the oxidizing capacity of the troposphere.

2.16 Acknowledgements

P.C. is grateful to the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies and the Fondation Armand-Frappier for his Ph.D. scholarships.

3 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 2

3.1 Mise en contexte de l'article 2

Même si le dépôt sec du H₂ est le plus important puits du H₂ troposphérique, il s'agit de l'étape du cycle biogéochimique du H₂ qui est la moins bien caractérisée. Jusqu'à présent, le cycle saisonnier des échanges surface-air du H₂ a été évalué à quatre sites seulement. Ces séries temporelles, réalisées en Eurasie, sont basées sur des mesures ponctuelles obtenues en utilisant la technique de la chambre à flux statique. Brièvement, cette approche consistait à recouvrir une parcelle de sol avec une chambre fermée munie d'un port d'échantillonnage permettant de faire le suivi de la concentration du H₂ pour une période de temps déterminée, généralement 1 heure. Le taux de consommation du H₂ était estimé en intégrant la courbe logarithmique représentant la variation de sa concentration en fonction du temps. Le principal désavantage de cette approche vient du fait que les mesures de flux sont faites de manière ponctuelles. Les flux, mesurés à temps donné, peuvent sous-estimer ou surestimer les échanges réels selon l'heure à laquelle les mesures ont été prises, particulièrement lorsque les flux varient en suivant un cycle diurne. Contrairement au cas du CO₂ dont le cycle diurne ainsi que les méthodes pour mesurer un flux représentatif sont bien établies (Davidson et al., 2002), il existe peu de données concernant la variation journalière des flux du H₂.

D'après les quatre séries annuelles obtenues en Eurasie, la vitesse de dépôt sec du H₂ varierait de 0 à 0,09 cm s⁻¹ (Conrad and Seiler, 1980; Förstel, 1986; Yonemura et al., 2000a; Lallo et al., 2008). Ces données ont été utilisées dans différents modèles développés pour prédire la distribution spatiotemporelle des concentrations de H₂ troposphérique. Les résultats de ces modèles suggéraient cependant que ces vitesses de dépôt sec sous-estimaient les flux du H₂, particulièrement dans l'hémisphère nord (Hauglustaine and Ehhalt, 2002). Puisque la température ainsi que le contenu en eau et en matière organique du sol sont tous des facteurs environnementaux qui modulent le dépôt sec du H₂, Celui-ci peut varier considérablement selon le type d'écosystème étudié. Plus de données expérimentales seront nécessaires pour documenter la variation spatiotemporelle des dépôts secs du H₂. Ces données entraîneront l'amélioration des

modèles, qui permettront éventuellement de prédire l'effet d'une modification du facteur d'émission du H₂ sur son abondance atmosphérique.

Étant donné l'absence de données rapportant les échanges surface-air du H₂ en continent américain, un bilan annuel des flux micrométéorologiques du H₂ (incluant aussi ceux du CO, CO₂ et H₂O) fut établi à la station de recherche de St-Anicet, une région rurale localisée entre Montréal et Cornwall. Les flux micrométéorologiques du H₂ ayant été obtenus avec une instrumentation automatisée, leur résolution en temps réel a permis de documenter leurs cycles saisonnier et diurne. Cet article a été accepté pour publication dans le journal *Atmospheric Environment* le 8 février 2008.

3.2 Contribution de l'étudiant à l'article 2

La station de St-Anicet est exploitée depuis le début des années 1990 par L. Poissant (Ph.D.), qui y mène des études concernant le dynamisme du mercure, des pesticides et des gaz à l'état de trace. Sous la supervision de L. Poissant (Ph.D.), l'étudiant a déployé la station micrométéorologique Bowen Ratio (avec l'aide de Conrad Beauvais, assistant de recherche) et l'analyseur de gaz à l'état de trace à St-Anicet. Pendant un an, l'étudiant a fait le suivi, l'entretien et la calibration périodique de l'instrumentation. Il a fait le traitement des données et a écrit l'article avec L. Poissant (Ph.D.) et R. Villemur (Ph.D.).

3.3 Article 2: Annual Hydrogen, carbon monoxide and carbon dioxide concentrations and surface to air exchanges in a rural area (Québec, Canada)

Philippe Constant^{1,2}, Laurier Poissant^{1*}, Richard Villemur²

¹Direction des sciences et de la technologie, Environnement Canada, 105 rue McGill, Montréal, Québec, H2Y 2E7

²INRS-Institut Armand-Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, H7V 1B7

*Corresponding Author

E-mail: Laurier.Poissant@EC.GC.CA

Tel.: (514) 283-1140

Fax: (514) 283-8869

(Les droits d'auteurs de cet article sont à Sa Majesté la Reine du Canada)

Référence : CONSTANT, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2008. Annual hydrogen, carbon monoxide and carbon dioxide concentrations and surface to air exchanges in a rural area (Québec, Canada). Atmospheric Environment, vol. 42, 5090-5100.

3.4 Résumé

L'industrialisation et l'explosion démographique ont influencé le cycle biogéochimique du H₂, du CO et du CO₂. Dans le contexte actuel, la connaissance de la distribution spatiale des sources et des puits naturels de ces gaz à l'état de trace est donc cruciale pour inférer l'influence des changements climatiques et de l'utilisation des terres sur leur budget global. Cet article rapporte la concentration et les flux micrométéorologiques du H₂, du CO et du CO₂ qui ont été mesurés pendant une période d'un an dans une région rurale représentative de l'écozone de la forêt mixte du Canada. L'utilisation des terres est un facteur important influençant les sources et les puits naturels des gaz à l'état de trace dans cette région qui est la plus densément peuplée au Canada.

Une station micrométéorologique de type Bowen Ratio (Campbell Scientific[®]) a été déployée à la station de recherche de St-Anicet, située à 3 km de la rive Sud du fleuve Saint-Laurent entre Montréal et Cornwall. Cette station était équipée d'un détecteur de H₂O et de CO₂ par infrarouge, dont la configuration permettait de mesurer leur concentration à 0,5 et 3,5 m au-dessus de la végétation. Combiné à la mesure du gradient de température, du flux de chaleur sensible et de la radiation nette, le gradient vertical de concentration d'H₂O permettait de calculer le rapport Bowen. C'est avec ce rapport Bowen qu'il était possible de calculer un coefficient de transfert turbulent ensuite utilisé pour dériver les flux de CO₂ et de H₂O. Dans le cas de gaz non réactifs, tels que le H₂ et le CO, le produit du gradient de concentration par le coefficient de transfert turbulent correspond au flux. Puisque la station micrométéorologique ne comportait pas d'analyseur pour ces deux derniers gaz, un chromatographe en phase gazeuse automatique fut configuré de manière à obtenir le gradient de concentration vertical du H₂ et du CO. L'équipement déployé à la station de St-Anicet permettait donc d'obtenir, en temps réel, le flux micrométéorologique et la concentration du H₂, du CO, du CO₂ et du H₂O.

L'impact de l'activité anthropique sur les concentrations de H₂ et de CO mesurées à St-Anicet fut observé en établissant leur rose de pollution respective, correspondant aux concentrations moyennes mesurées en fonction de la direction du vent. Ces roses de pollution montrent que le secteur du Nord-Est était celui où les concentrations de H₂ et de CO étaient les plus élevées. Étant donné que les villes de Valleyfield et de Montréal sont

situées au Nord-Est de la station, la hausse des concentrations observées pour ce secteur serait d'origine anthropique. Les concentrations de H₂ et de CO suivaient également un cycle saisonnier typique où les concentrations minimales étaient observées lors de la saison estivale.

Le gradient vertical des concentrations de H₂ et de CO était généralement inférieur à 5% le jour, mais augmentait la nuit en raison de la formation de la couche limite nocturne. En terme de flux, le site émettait le CO₂ à un taux de 7,7 g m⁻² j⁻¹ et consommait le H₂ et le CO à 0,34 mg m⁻² j⁻¹ et 5,1 mg m⁻² j⁻¹, en moyenne. Ces flux correspondaient à des vitesses de dépôts secs de 0,15 et 0,20 cm s⁻¹ pour le H₂ et le CO, respectivement. La température était le facteur qui influençait le plus les échanges surface-air du H₂ et du CO. Les pertes au sol du H₂ et du CO étaient maximales à la fin de la saison estivale, alors des émissions nettes de H₂ et de CO étaient observées lors de la fonte des neiges. En hiver, les dépôts secs du H₂ et du CO furent attribués à leur oxydation par des composés photochimiquement actifs dans le manteau neigeux. Des études ciblées seront cependant nécessaires afin d'identifier la nature exacte des émissions sporadiques de H₂ et de CO détectées lors de la fonte des neiges et la réactivité du manteau neigeux à l'égard de ces deux gaz à l'état de trace.

Lorsque la température du sol était au-dessus de 10°C, les flux mesurés suivaient un cycle diurne bien défini. Les dépôts secs du H₂ et du CO₂ étaient corrélés positivement à l'évapotranspiration, alors que la tendance inverse était observée pour le CO. La variation diurne des échanges de CO₂ était le résultat d'un équilibre entre la photosynthèse et la respiration du sol, tandis que différents facteurs biologiques et abiotiques ont été proposés pour expliquer la tendance observée pour le H₂. La corrélation entre le dépôt sec du H₂ et l'évaporation pourrait s'expliquer par l'assèchement du sol qui favorise la diffusion du H₂. Cependant, les données disponibles ne permettent pas d'exclure le rôle de mécanismes encore non documentés, tels qu'une consommation du H₂ photo-induite par des micro-organismes du sol ou par la végétation. D'autres travaux seront nécessaires pour vérifier l'importance réelle des différents mécanismes proposés. Dans le cas du CO, les émissions provenant de réactions chimiques et photochimiques étaient impliquées dans l'atténuation de ses pertes au sol durant le jour.

Les flux mesurés ont été comparés avec ceux rapportés dans la littérature pour

démontrer l'importance des sites ruraux dans le budget des gaz à l'état de trace étudiés. Les vitesses de dépôts secs du H₂ et du CO rapportées étaient supérieures à celles rapportées dans la littérature, démontrant l'importance de documenter leur variation spatiotemporelle.

3.5 Abstract

The industrialization and the demographic expansion have both influenced the biogeochemical cycle of H₂, CO and CO₂. In the actual context, knowledge about the spatial distribution of the natural sources and sinks of these trace gases is then crucial to infer possible effects of climate and land use changes on their global budget. This article reports the H₂, CO and CO₂ concentrations and micrometeorological fluxes measured during one year in a rural area of the mixed wood ecozone of Canada. Land use represents a critical issue in the control of trace gas natural sources or sinks of that region, which is the most densely habited in Canada. On average, the site emitted CO₂ at a rate of 7.7 g m⁻² d⁻¹ and consumed H₂ and CO at 0.34 mg m⁻² d⁻¹ and 5.1 mg m⁻² d⁻¹, respectively. Temperature was the most important factor affecting the H₂ and CO surface to air exchanges. The strength of the soil sink was maximal at the end of the summer, while H₂ and CO emissions were observed at the snow melting period. In winter, H₂ and CO depositions were attributed to their oxidation by photochemically active compounds within the snow cover. When soil temperature was above 10°C, trace gas fluxes followed a well-defined diurnal cycle. H₂ and CO₂ deposition rates were positively correlated with H₂O fluxes while CO followed the inverse trend. CO₂ diurnal variations resulted from a balance between photosynthesis and soil respiration, while some biotic and abiotic factors were proposed to explain the trend observed for H₂. In the case of CO, emissions originating from chemical and photochemical reactions were involved in the attenuation in the strength of the soil sink during daytime. Measured fluxes were compared with literature to show the relative importance of rural areas in the studied trace gases budget.

3.6 Introduction

As a consequence of their oxidation reactions with OH[·], H₂ and CO are considered as indirect greenhouse gases. By increasing their levels in the atmosphere, less OH[·] are available to oxidize methane, a trace gas presenting a global greenhouse potential 20 times greater than CO₂. Anthropogenic activities such as the utilization of fossil combustibles and biomass burning are important sources of atmospheric H₂ and CO. However, as their reactivity toward OH[·] is different, H₂ and CO atmospheric concentrations are not following the same spatial distribution.

In the atmosphere, H₂ has an atmospheric lifetime of 1.2 - 2 years (Novelli et al., 1999; Hauglustaine and Ehhalt, 2002; Sanderson et al., 2003; Rhee et al., 2006b) before being removed following an oxidation either by OH[·] or microorganisms synthesizing high affinity hydrogenases (Conrad and Seiler, 1981). Since soil microbial uptake accounts for almost 70-80% of the H₂ sinks, this activity exerts a significant effect on the global H₂ concentrations distribution (Novelli et al., 1999; Hauglustaine and Ehhalt, 2002; Rahn et al., 2002a). Hence, the globally averaged tropospheric H₂ mixing ratio is minimal at the end of the summer (450-520 ppbv) and reaches a peak in springtime (530-550 ppbv), owing to the effect of temperature on the metabolism of soils microbial populations involved in H₂ soil uptake (Novelli et al., 1999; Barnes et al., 2003). In addition, although the major sources of H₂ are in the N.H., H₂ background concentrations are significantly lower in the northern than in the S.H. (Novelli et al., 1999). This distribution is attributable to the most important continental surface of the N.H., which represents a larger sink for H₂ than the southern hemisphere. To our knowledge, there are only 3 studies reporting complete annual time series of H₂ fluxes. Two were conducted in Germany (Conrad and Seiler, 1980; Förstel, 1986), and in Japan (Yonemura et al., 2000a). In the latter studies, the soils acted as a net sink for H₂ with a deposition velocity in the order of 0 to 0.09 cm s⁻¹.

Opposite to H₂, CO atmospheric distribution is more variable, due to its relatively short atmospheric lifetime, estimated to be 10 days in summer and 1 year during the winter (Holloway et al., 2000). These differences of atmospheric lifetime are attributed to the reactivity of CO toward OH[·]. OH[·] are the main sink of CO and their concentrations are maximal in summertime. As H₂, CO mixing ratio is following a seasonal variation,

with the minimal values observed in summer and the peak in spring (Narita et al., 1999). Averaged CO mixing ratios are of 200 and 40 ppbv in the northern and southern hemisphere, respectively (Novelli et al., 1998). This distribution is attributable to the fact that almost 30% of the global CO production is confined in the industrialized regions of the northern hemisphere (Khalil and Rasmussen, 1990a). Microbial soil uptake is also an important component of the global CO budget (King, 1999). The exact contribution of CO soil uptake is still uncertain but soil's temperature, organic matter content and moisture are known to control the exchanges (Conrad and Seiler, 1985; Moxley and Smit, 1998b; Sanhueza et al., 1998; Yonemura et al., 1999a, 1999b, 2000c). From the limited CO fluxes annual time series analyses conducted in Germany (Sanhueza et al., 1998) and Japan (Yonemura et al., 2000a), CO deposition velocities were in the order of 0 to 0.07 cm s⁻¹.

Although efforts are invested to reduce trace gas anthropogenic emissions, land use remains an important issue in the climate forcing management (see Foley et al., 2005 for a review). In Canada, although the mixed forest ecozone covers only 15% of the total area, it represents the most densely populated territory. Hence, this region is confronted to urbanization and agriculture, depending on the landscape physical attributes (Pan et al., 1999). In this article, the annual series of H₂ and CO micrometeorological fluxes measured in a rural area are described and compared with values documented for other type of environments. CO₂ and H₂O micrometeorological fluxes were also derived to explore their possible link with H₂ and CO soil uptake. As this is the first annual series of H₂ and CO fluxes reported in North America, the results will be important to improve actual models that are based on a limited dataset. Indeed, the results show that deposition velocities reported previously can underestimate the importance of soil uptake in the case of H₂ and CO budgets. As a whole, temperature was the main factor influencing the fluxes, but water evaporation stimulated the H₂ soil uptake in summer.

3.7 Experimental

3.7.1 Site description

The experimentation was realized at St. Anicet (Québec, Canada), a rural area located about 3 km inland on the south shore of the St. Lawrence River between Cornwall

(Ontario) and Montréal (Québec) at 45°07' North latitude and 74°17' West longitude (Figure 3.1). The site is part of the mixed wood plains, the most populated ecozone of Canada. Soils of this ecozone are productive and exploited for corn cultivation as well as pasture for cattle. The distribution of the soil particles consisted of 41.7% for clay, 21.8% for loam and 36.7% for sand with a pH of 7.3. The relief of the region is mostly flat, with some forested areas dominated by *Acer saccharum* Marsh.

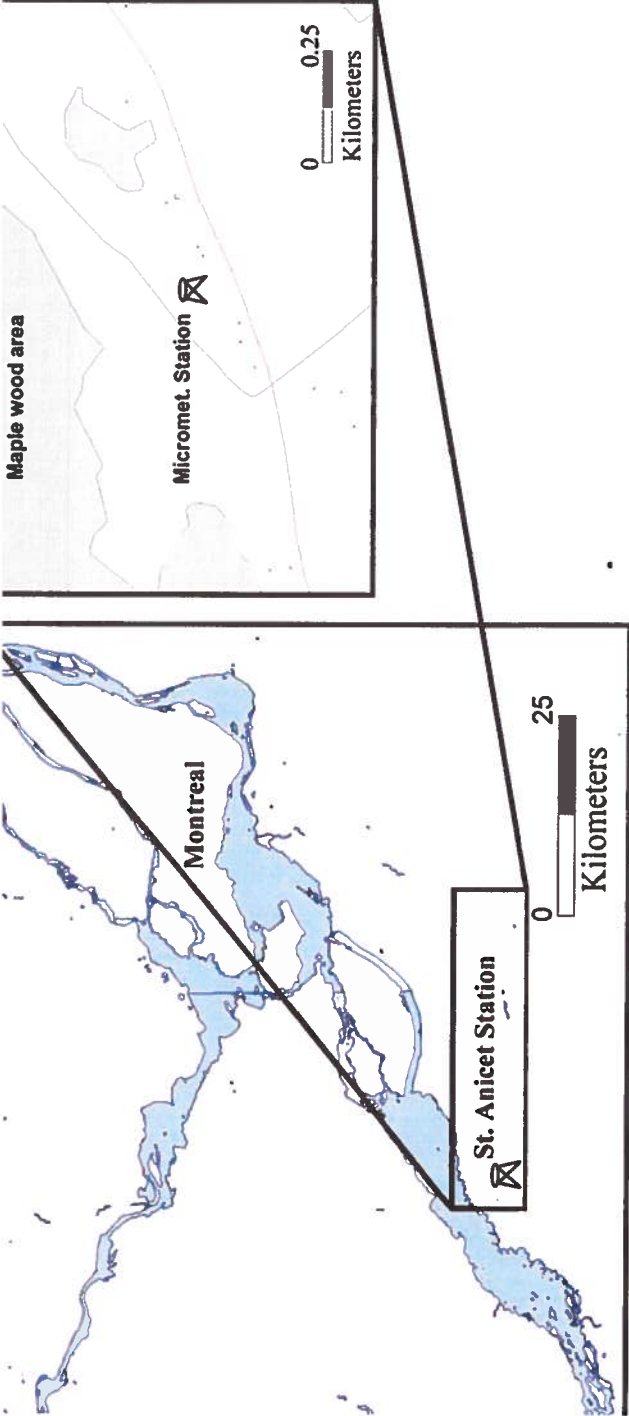
At the studied site, there is a completely autonomous research station operated since the 1990's for mercury investigations (Poissant et al., 2005) and a meteorological station managed by Environment Canada. For the needs of the present study, a micrometeorological tower was deployed to derive H₂, CO, CO₂ and H₂O micrometeorological fluxes from November 2003 to the end of October 2004. Fluxes were measured along a 3 m vertical gradient, at 0.5 m above the vegetation canopy consisting mainly of grass. The grass was cut every month during the growing season and was kept to a height of 5 to 10 cm. The micrometeorological tower was located at a distance of ~250 m of a maple forest and the surrounding relief was flat (Figure 3.1). During the investigation, total precipitations were of 805 mm and averaged air temperature was 6.98°C. The snow cover extended from December to March and reached its maximal level (50 cm) in February.

3.7.2 Micrometeorology: Modified Bowen Ratio approach

Trace gas vertical transport of a gaseous constituent toward or from a studied surface is expressed as:

$$F_c = -k_c \cdot \frac{\delta c}{\delta z} \quad (1)$$

where F_c is the flux of the trace gas c , k_c is the eddy diffusivity coefficient, δc is the vertical concentration gradient of the trace gas c ($C_{\text{lower}} - C_{\text{upper}}$) and δz is the height vertical gradient ($z_{\text{lower}} - z_{\text{upper}}$). Negative fluxes are therefore measured when the studied surface acts as a net sink for the trace gas c , while positive values mean that the surface acts as a net source. The MBR approach had been extensively utilized to derive the fluxes of gaseous mercury (Poissant et al., 1999; Lindberg and Meyers, 2001), gaseous HNO₃ (Müller et al., 1993) and a variety of trace gases such as H₂, CO, CH₄ and CO₂ (Constant et al., 2005). In this study, a Bowen Ratio System (Campbell Scientific[®]) was operated to



Map showing the location of St. Anicet (Québec, Canada) and the topography of the landscape surrounding the biological station.

derive the real time flux of H₂, CO, H₂O and CO₂. Air inlet of the CO₂/H₂O and H₂/CO analyzers were connected to programmable solenoid valves, allowing a sequential air sampling at 0.5 and 3.5 m above the vegetation canopy. The Bowen Ratio System allowed the derivation of the heat eddy diffusivity coefficient (k_H) following:

$$k_H = \frac{(z_{upper} - z_{lower})H}{(T_{lower} - T_{upper})\rho C_p} \quad (2)$$

where $(z_{upper} - z_{lower})$ represents the vertical height gradient utilized (3 m), T is air temperature measured at 0.5 m (T_{lower}) and 3.5 m (T_{upper}) over the vegetation canopy, ρ is air density, C_p is specific heat of moist air and H is sensible heat flux (Campbell scientific Inc., 1995). Determination of H is done by forcing the closure of the surface energy balance:

$$Rn = Le + H + G \quad (3)$$

where Rn is the net radiation, Le the latent heat flux and G is the ground heat flux. While Rn and G are directly measured with the probes of the Bowen Ratio System, partitioning between Le and H is derived with the Bowen Ratio (β):

$$\beta = \frac{H}{Le} = \frac{P \cdot C_p}{Lv} \cdot \frac{T_{lower} - T_{upper}}{e_{lower} - e_{upper}} \quad (4)$$

where $P \cdot C_p / Lv$ is the psychrometric constant (the ratio of specific heat of moist air at constant pressure to latent heat of vaporization of water) and e is the water vapor concentration measured at 0.5 m (e_{lower}) and 3.5 m (e_{upper}). Le is then calculated by substituting βLe for H in the surface energy balance (eq. 3):

$$Le = \frac{Rn - G}{1 + \beta} \quad (4)$$

The utilization of the MBR was done with the assumption that the eddy diffusivity coefficient (k) was the same for heat, H₂O, CO₂, H₂ and CO. The calculated k_H was then multiplied by the H₂, CO or CO₂ concentration gradients to derive their respective fluxes. The reliability of the method has already been assessed, yielding typically errors in the order of 10-15%, which is in the same magnitude of the errors observed with the aerodynamic methodologies (Baldocchi et al., 1988 and cited references). The Bowen Ratio System was equipped with two fine wire chromel-constantan thermocouples

(Campbell Scientific[®], resolution of $\pm 0.006^{\circ}\text{C}$) to measure air temperature at 0.5 and 3.5 m over the vegetations canopy. The balance of solar and far infrared radiation, namely net radiation was measured with a Q7 net radiometer (Campbell Scientific[®], spectral range: 0.25 to 60 μm). Soil heat fluxes were derived with two heat flux plates (HFT3 Soil Heat Flux Plate, Campbell Scientific[®], precision better than 5% of reading), a set of averaging soil chromel-constantan thermocouples (model TCAV Type E, Campbell Scientific[®]) measuring soil temperature at 2 and 6 cm above the heat flux plates and a volumetric water content reflectometer (model CS615, Campbell Scientific[®]) measuring volumetric water content from 0% to saturation (resolution better than 0.1%).

3.7.3 Trace gas analyzers

H_2O and CO_2 concentration gradients were determined with a closed path infrared gas analyzer system (Li-6262, LI-COR, Inc., Lincoln, Nebraska) (IRGA). The analyzer was operated with an air sampling flow rate of 0.4 L min^{-1} . Since the IRGA is equipped of two separated detectors, H_2O and CO_2 concentration gradients were measured every second and averaged each 20 minutes. The analyzer was housed into the 023/ CO_2 enclosure (Campbell Scientific[®]) with the 21X data acquisition system (Campbell Scientific[®]). The IRGA was calibrated with the dilution of a CO_2 calibration gas at the beginning and the end of the field campaign.

H_2 and CO concentration gradients were determined with a gas chromatographic RGA5 system (Trace Analytical, Maryland; see Constant et al. (2005) for technical details). Air samples passed through a 6.3 mm Teflon tube at a flow rate of 5 L min^{-1} that was restricted to $40 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ at the sample inlet of the instrument. The analyzer was housed in a temperature controlled shelter, 10 m away from the micrometeorological tower. Since the time response of the RGA5 system was 10 min, H_2 and CO vertical concentration gradients were measured every 20 min. The analyzer was calibrated once a week using a standard gas mixture (815 ppbv of H_2 , 190.5 ppbv of CO and 380.3 ppmv of CO_2 , Scott Marrin Inc., Riverside, California) certified from the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA; Climate Monitoring and Diagnostics Laboratory). The calibration factors (chromatographic peak area/ppbv of H_2 or CO) standard deviations were less than 5%.

3.7.4 Correction of the fluxes

Heat and/or water vapor fluxes are known to cause interferences in the determination of trace gas atmospheric turbulent flux (Webb et al., 1980). These interferences are caused by the expansion of the sampled air that affects trace gas density. These biases may be avoided by drying the air before the analyses or by applying the Webb correction to the derived fluxes (Webb et al., 1980). The corrections applied were specific for each analyzer. As the IRGA was housed in an enclosure installed on the micrometeorological mast, temperature and atmospheric pressure variations between ambient air and inside the analyzer chamber were assumed negligible. CO₂ and H₂O fluxes were then corrected for the density variations associated with the mean humidity gradient only (Leuning and Moncrieff, 1990; Webb et al., 1980; equation 33). In the case of H₂ and CO, since the analyzer was housed in a temperature controlled shelter, fluxes were corrected for density variation associated with the mean humidity gradient and the difference of temperature between the sampled air and the analyzer chamber (Webb et al., 1980; equation 35b).

3.7.5 Quality control

Frequency distribution of the measured H₂, CO, CO₂ and H₂O vertical concentrations gradients was derived on a monthly basis and only values within 95% of the confidence interval were kept. Eddy diffusivity coefficients were validated by using objective criteria based the possibility of obtaining errors in the evaluation of net radiation and subsurface fluxes, wrong signs for the turbulent fluxes and inaccurate magnitude of the fluxes when the Bowen Ratio approached -1 (Ohmura, 1982; Perez et al., 1999).

3.7.6 Statistical analyses

Linear relationships between trace gases flux and selected meteorological parameters were evaluated by Pearson correlation analyses. One way ANOVA were also conducted to confirm if H₂, CO and CO₂ average flux measured under different soil conditions (frozen, thawed and warm) were equivalent ($H_0: \mu_{\text{frozen}} = \mu_{\text{thawed}} = \mu_{\text{warm}}$) or not ($H_1: \mu_{\text{frozen}}, \mu_{\text{thawed}}$ and μ_{warm} are not equivalent). When H_0 was rejected, t tests were utilized to identify the specific soil conditions characterized by similar or different trace

gas average flux. All the statistical analyses were realized by using the software JMP IN[®] (SAS Institute Inc., Academic version 4.0.4).

3.8 Results and discussion

3.8.1 Urban influence on H₂ and CO concentrations measured at St. Anicet

In consequence of their relatively long atmospheric lifetime, H₂ and CO concentrations measured in remote areas, such as St. Anicet, might be influenced by urban sources. As observed with atmospheric mercury species (Poissant et al., 2005), the NE wind sector was the most concentrated area in regard of H₂ (Figure 3.2a) and CO (Figure 3.2b). High levels of H₂ and CO in air masses arriving from the NE wind sector were presumably of anthropogenic origin since Montreal (1.8 million habitants) and Valleyfield (40 thousand habitants) cities are located upwind this wind sector. However, the investigated area was exposed to these urban emissions only 29 % of the times since the dominant winds were from the WSW sector (Figure 3.2c). According to the dataset provided by the NOAA (NOAA website), both H₂ and CO concentrations followed a well-defined seasonal cycle. In winter, H₂ concentrations varied between 400-700 ppbv, and dropped to 200-300 ppbv during the summer. These latter H₂ concentrations were lower than typically reported for the marine boundary layer, the regionally polluted boundary layer and the free troposphere (Novelli et al., 1999), and are attributed to the H₂ soil uptake activity. Indeed, H₂ concentrations as low as 135 and < 400 ppbv were respectively measured during nocturnal inversions within and above the forest canopy of a boreal forest in Alaska, a site where H₂ soil uptake varied between 0.02-0.1 mg m⁻² h⁻¹ (Rahn et al., 2002a). In the case of CO, concentrations varied between 200-600 ppbv in the winter and 100-200 ppbv during the summer. These typical seasonal trends are attributable to the mechanisms involved in H₂ and CO sinks that are less efficient in the winter (Holloway et al., 2000; Novelli et al., 1999). Accordingly, H₂ and CO fluxes derived at St. Anicet followed a definite seasonal cycle, with optimal soil uptakes during the summer.

3.8.2 Soil temperature: a key determinant for trace gas exchanges

The MBR method is utilized by assuming similarity of the eddy diffusivities of heat and water vapor that are calculated by forcing the closure of the surface energy

budget. As a whole, distribution of the validated eddy diffusivity coefficients (Figure 3.3a) is consistent with results from previous micrometeorological measurements (e.g.: Lindberg and Meyers, 2001). H₂ and CO vertical concentration gradients were typically lower than 5%, while higher gradients were measured between 19h00 and 6h00 due to the formation of the nocturnal boundary layer (Figure 3.3b,c). On an annual basis, the investigated area acted as a net sink of H₂ and CO with averaged fluxes of -0.34 mg m⁻² d⁻¹ and -5.1 mg m⁻² d⁻¹, respectively. In term of deposition velocity, these fluxes corresponded to 0.15 and 0.20 cm s⁻¹, indicating that H₂ and CO soil uptakes were in the upper limit of previously observed in Eurasia and Africa (Table 3.1). Alternatively, the investigated area represented a net source of CO₂, with an annual averaged flux of 7.7 g m⁻² d⁻¹. This net CO₂ emission is about 10 times higher than observed in the arctic tundra (Welker et al., 2000).

Among the meteorological parameters measured, soil and air temperatures were the variables that were the most significantly correlated with the fluxes. In the case of H₂ and CO, soil uptake dominated in the summer and reached their peak in September (Figure 3.4a,b). In the presence of snow, H₂ and CO fluxes were more variable (Figure 3.4a,b). H₂ and CO were either emitted or consumed by the snowpack, following their potential production by organic matter and HCHO photolysis (Haan et al., 2001) or their oxidation by radicals, such as OH[·], that are produced in the snowpack (Dominé and Shepson, 2002). The most important H₂ and CO effluxes occurred in March, corresponding to the end of the snow melting period (Figure 3.4a,b) when the ground of the investigated area was covered with few patches of snow and saturated with water. Once saturated with water, soil trace gas diffusivity is reduced and these conditions are favoring the metabolism of anaerobic microorganisms that are known to generate H₂ and CO as by-products (Moxley and Smith, 1998a). Further investigations are however needed to confirm the exact nature of these springtime emissions. The significance of these seasonal variations was confirmed by separating the dataset into three categories, according to soil temperature: **(I)** frozen soil; -10°C < T_{soil} ≤ 0°C, **(II)** thawed soil; 0°C < T_{soil} ≤ 10°C and **(III)** warm soil; 10°C < T_{soil} ≤ 20°C. Depending on the soil temperature interval, soil acted as a net source or sink of H₂ and CO (Table 3.2).

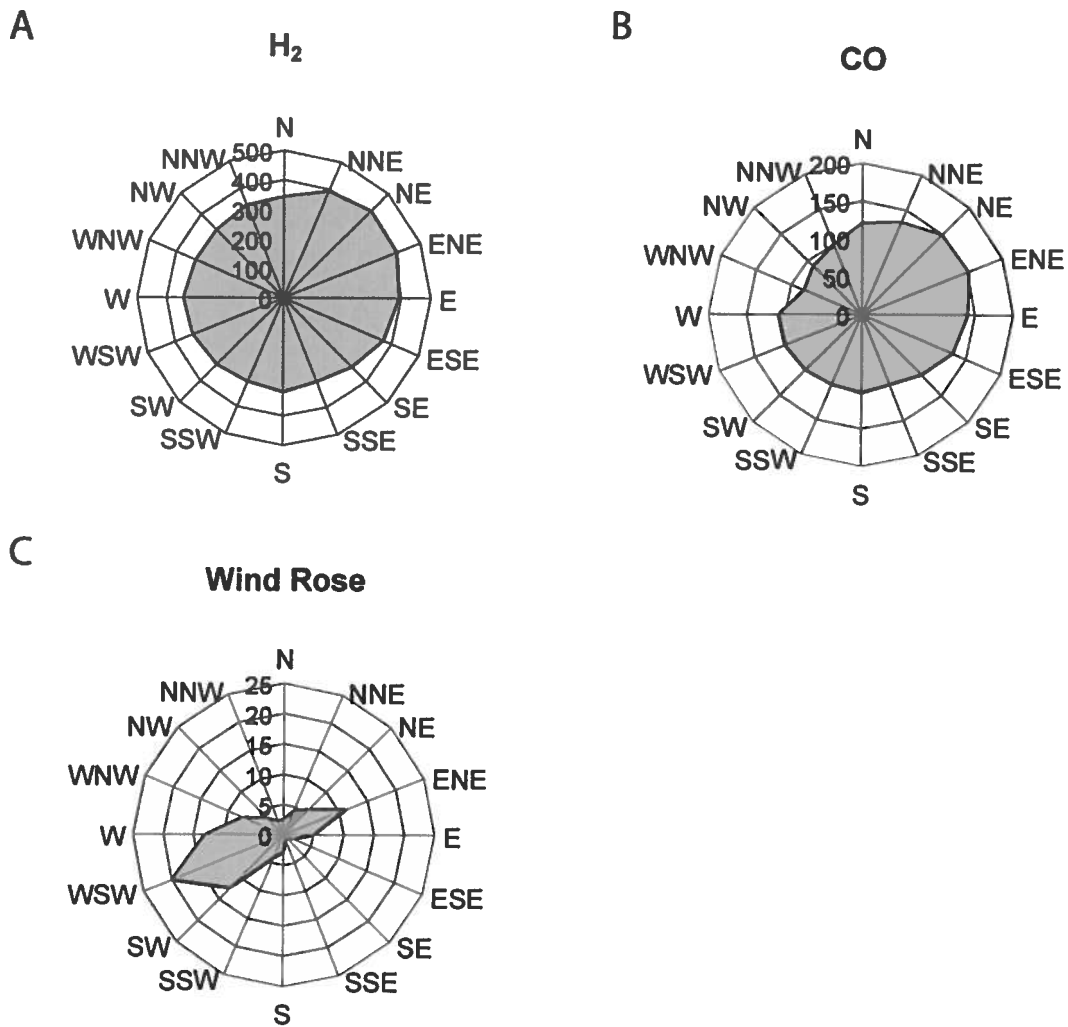


Figure 3.2. Pollution roses for (A) H₂ and (B) CO concentrations as well as (C) wind rose measured at St. Anicet during the entire field campaign.

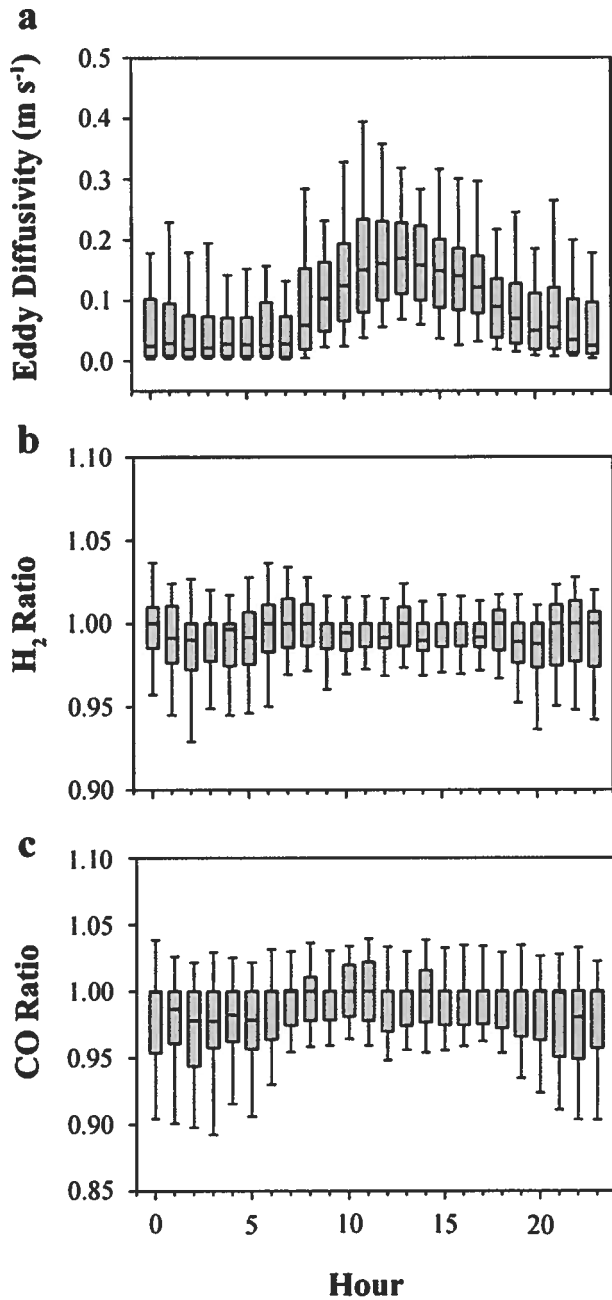
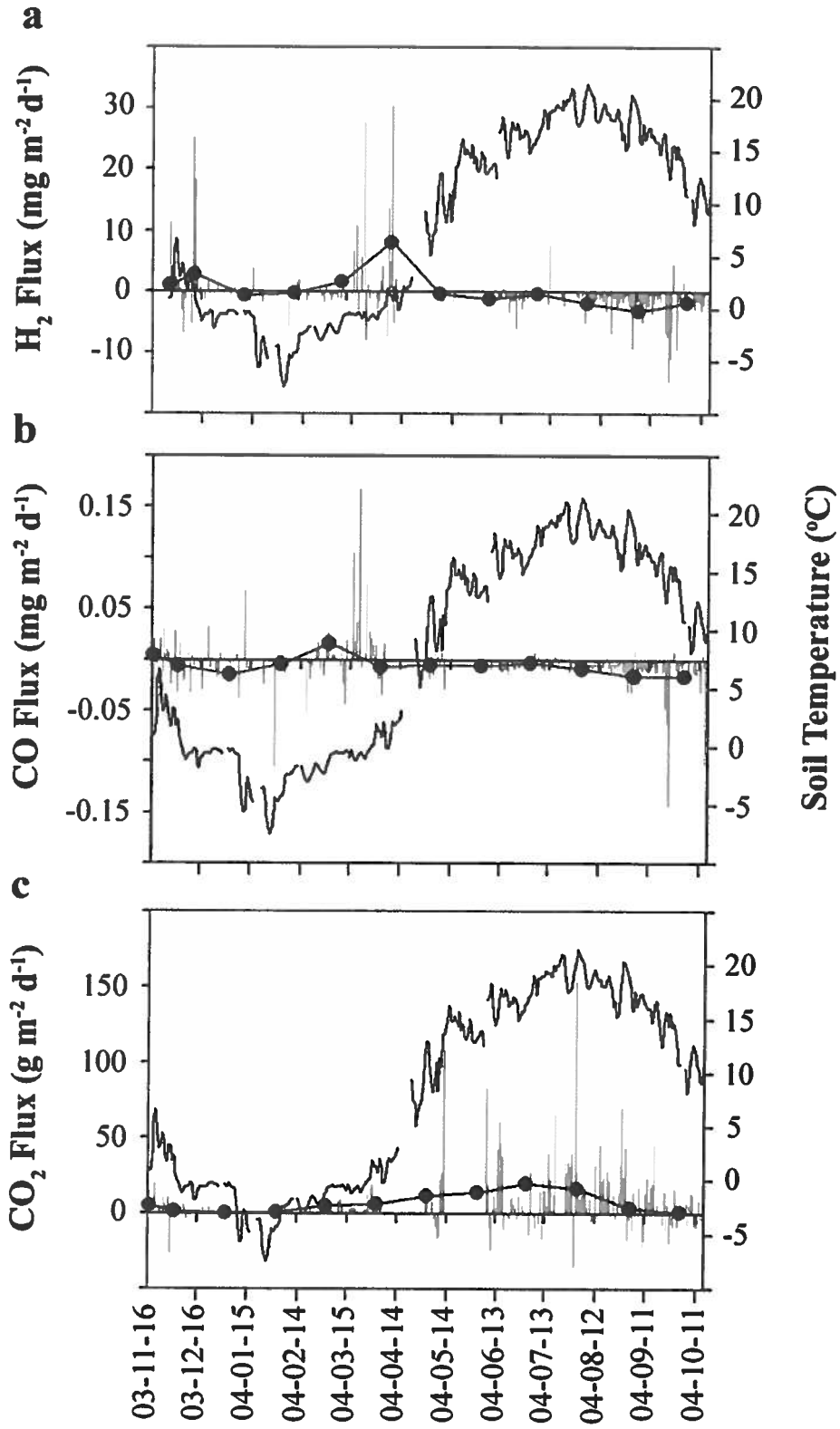


Figure 3.3. Box diagrams of the hourly median of (A) Eddy Diffusivity coefficients, (B) H₂ concentration ratio ($[H_2]_{\text{lower level}}/[H_2]_{\text{upper level}}$) and (C) CO concentration ratios ($[CO]_{\text{lower level}}/[CO]_{\text{upper level}}$) measured at St. Anicet over the entire field campaign. Each box has a line at the median value, while the bottom and the top are the 25th percentile and the 75th percentile, respectively. The lines extending from each end of the boxes show the extent of the rest of the data.

Table 3.1. Comparison of H₂ and CO deposition velocities (Dv) derived at St. Anicet with values reported by other investigators.

H ₂ Dv (cm s ⁻¹)	CO Dv (cm s ⁻¹)	Site and method	References
0.00 – 0.07	N/A	Grass and clover fields (Germany), closed-chamber (1 year)	Conrad and Seiler, 1980
0.12 – 0.14	0.05 – 0.06	Barren soil (Spain), semi desert/savanna (South Africa), closed-chamber (sporadically Sept-Feb)	Conrad and Seiler, 1985
0.00 – 0.08	N/A	Arable land (Germany), tritium soil uptake (1 year)	Förstel, 1986
N/A	0.00 – 0.05	Deciduous forest (Germany), closed-chamber (1 year)	Sanhueza et al., 1998
0.00 – 0.10	0.00 – 0.06	Andisol (Japan), open-flow chamber (1 summer)	Yonemura et al., 1999a
0.00 – 0.09	0.00 – 0.07	Arable field, forest of pine and deciduous trees (Japan), closed-chamber (1 year)	Yonemura et al., 2000a
N/A	0.028 – 0.039	Temperate grass field (Japan), micrometeorology (2 weeks)	Yonemura et al., 2000b
0.00 – 0.33	0.00 – 0.40	Rural area (Canada), micrometeorology (1 year)	This study

Figure 3.4. Time series for (A) H₂, (B) and (C) CO₂ fluxes and soil temperature measured at St. Anicet. Each bar represents the daily averaged flux and the black line is the daily averaged soil temperature. The monthly averaged fluxes (dotted lines) were also added to put emphasis on their seasonal cycle. Missing values were caused by instrumental failures of the trace gas analyzers or the probes of the micrometeorological station.



Parameter	H_2 [†] (mg m ⁻² d ⁻¹)	[H ₂] (ppbv)	CO (mg m ⁻² d ⁻¹)	[CO] (ppbv)	CO ₂ (g m ⁻² d ⁻¹)	[CO ₂] (ppmv)
1	-1.5* (7.1)	270 (73)	-8.9* (41)	87 (28)	12* (93)	375 (54)
2	1.9** (25)	407 (143)	-2.6** (80)	136 (51)	4.8** (26)	365 (20)
3	0.36*** (16)	420 (90)	1.1** (94)	144 (67)	2.2** (10)	370 (9)

ce gas, significant differences between temperature intervals are denoted by different superscript symbols. are assessed by a one way ANOVA analysis followed by a comparison of the means for each pairs of interval with a *t*-test ($\alpha = 0.05$).

Although the investigated area acted as a net source of CO₂, the emissions were attenuated when soil temperature fallen below 10°C (Table 3.2). Indeed, both CO₂ emissions and soil temperature reached their peak on July 31st (Fig. 3.4c). In winter, measured CO₂ fluxes were in the upper limit of the 0.1 to 3.2 g m⁻² d⁻¹ derived by using the CO₂ concentration gradients within the snow cover of a variety of ecosystems (Swanson et al., 2005 and cited references). This important variability in wintertime CO₂ emissions is known to be dependent of soil labile carbon availability (Brooks et al., 2005) and the depth of the snow cover (Monson et al., 2006).

Even if CO₂ efflux is often utilized as an indicator of soil total microbial activity, daily averaged CO₂ fluxes measured at St. Anicet were poor predictors of the H₂ ($r = -0.0738$; $\alpha = 0.29$) and CO ($r = -0.0325$; $\alpha = 0.64$) surface to air exchanges. In a study conducted in Japan (Yonemura et al., 1999a), the absence of direct link between CO₂ emissions with H₂ and CO soil uptake was attributed to the variation of the gas diffusivity in response of changes in soil water content. Effectively, CO₂ emissions are favored under wet conditions (Moore and Dalva, 1993; Davidson et al., 1998), while H₂ and CO soil uptakes need dry conditions (Yonemura et al., 2000c).

3.8.3 Diurnal cycle of trace gas exchanges

H₂ soil uptake is a widespread process that was already observed in a broad variety of soils. On a daily basis, it is believed that this process is either in a steady state (Conrad and Seiler, 1985) or follows a diurnal cycle, with a higher deposition rate during the night (Yonemura et al., 1999a). At St. Anicet, when soil temperature was between 10 and 20°C, H₂ soil uptake followed a definite diurnal pattern, correlated with H₂O fluxes and CO₂ uptake (Figure 3.5a). Since soil water content is known as a critical parameter determining if a site is a consumer or producer of H₂ (Conrad and Seiler, 1985; Schuler and Conrad, 1991; Yonemura et al., 2000c; Smith-Downey et al., 2006), peak of H₂ soil uptake should be attributed to an increase of soil air filled porosity owing to H₂O evaporation. However, although vegetation and microbial photo-induced tropospheric H₂ uptake are not documented, they should also be considered as potential mechanisms involved in the diurnal cycle observed. Diurnal variation of H₂ soil uptake was abolished when soil temperature fallen below the 10°C (Figure 3.5b,c).

Figure 3.5. Diurnal cycle of median H₂, CO₂, H₂O fluxes and soil temperature measured when soil temperature was (A) $20 > T^{\circ} \geq 10^{\circ}\text{C}$, (B) $10 > T^{\circ} \geq 0^{\circ}\text{C}$ and (C) $0 > T^{\circ} \geq -10^{\circ}\text{C}$. H₂ fluxes are represented by the grey dots while soil temperature, CO₂ and H₂O fluxes are represented by the dashed line, the grey line and the blank line, respectively.

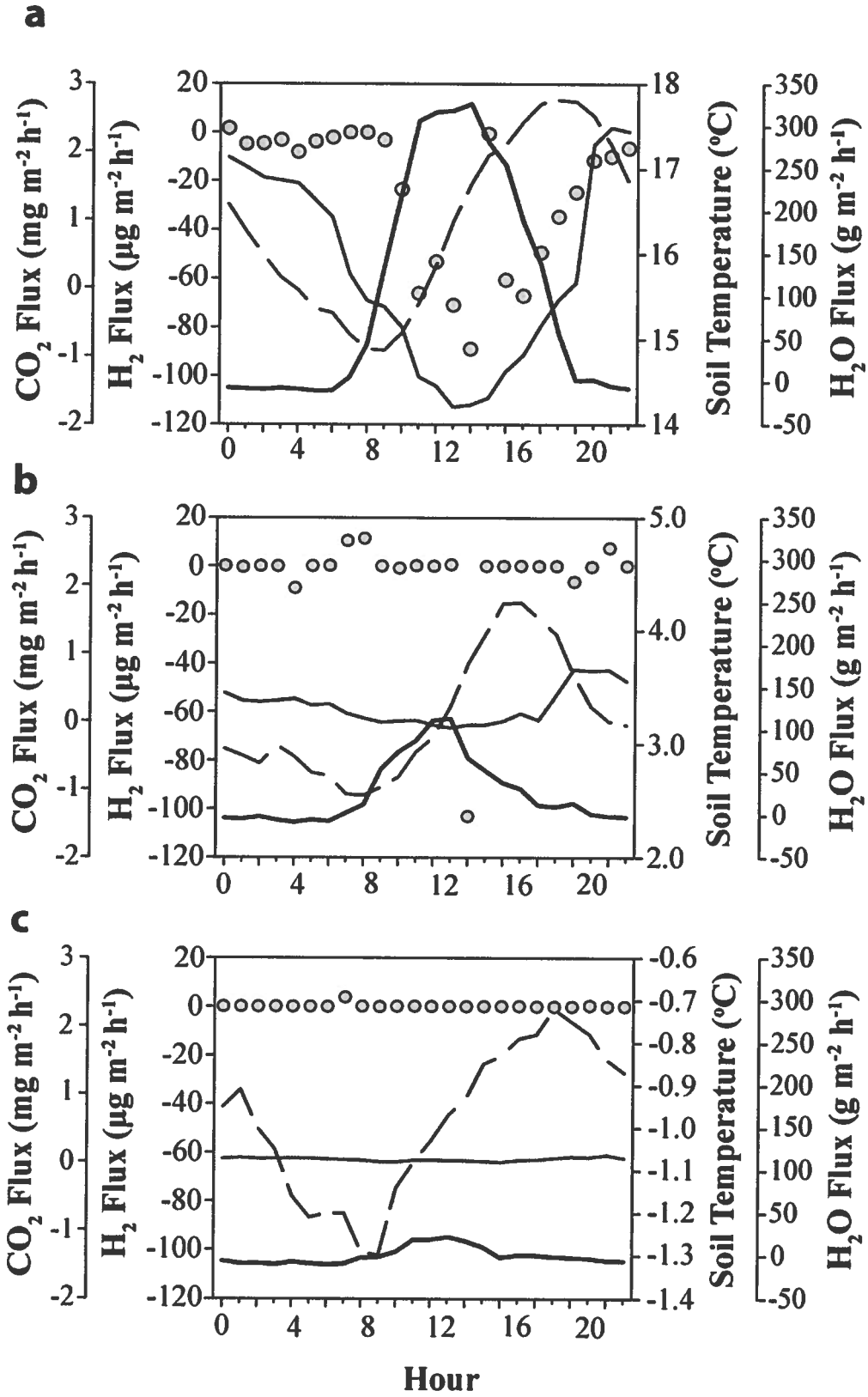
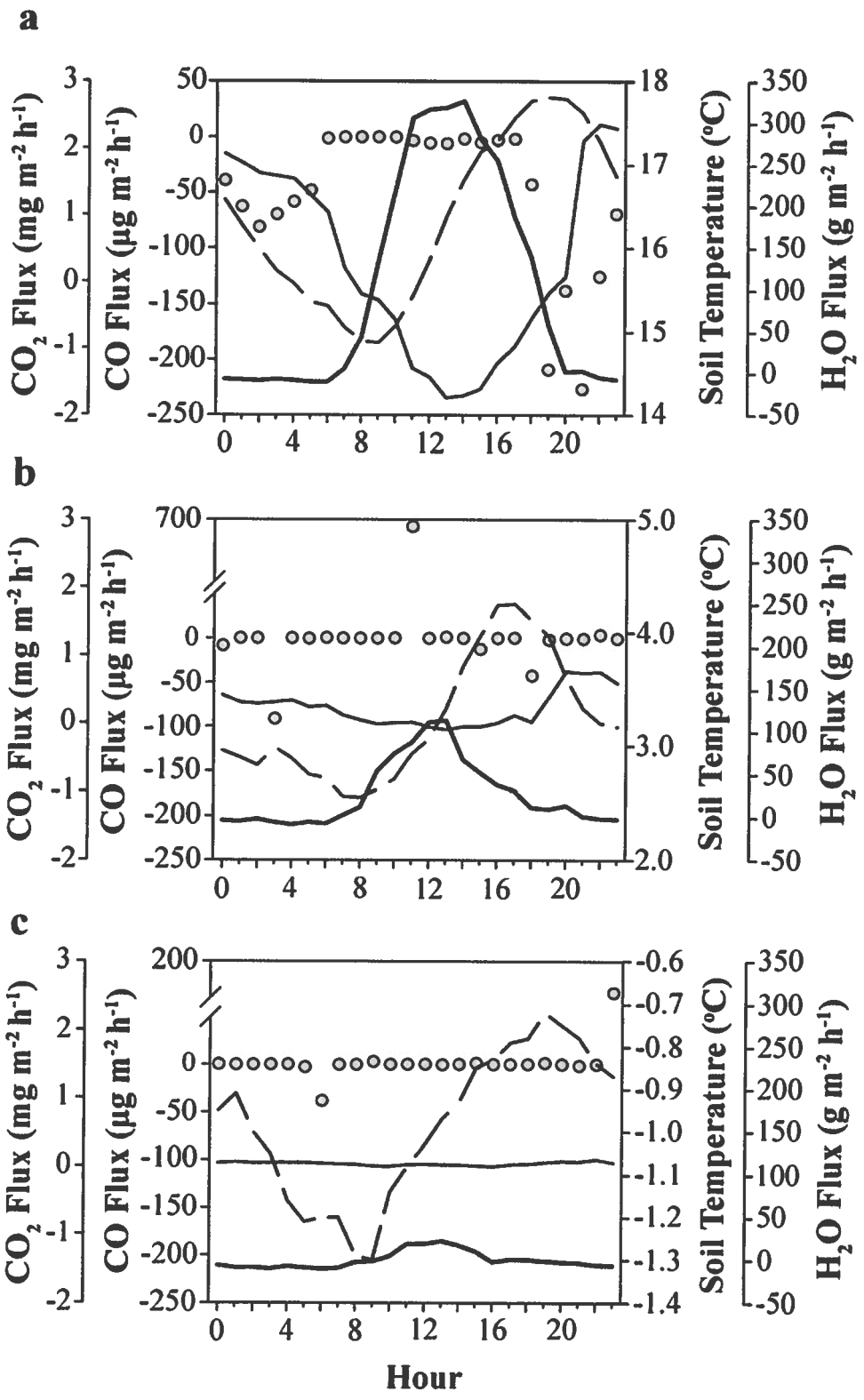


Figure 3.6. Diurnal cycle of median CO, CO₂, H₂O fluxes and soil temperature measured when soil temperature was (A) $20 > T^{\circ} \geq 10^{\circ}\text{C}$, (B) $10 > T^{\circ} \geq 0^{\circ}\text{C}$ and (C) $0 > T^{\circ} \geq -10^{\circ}\text{C}$. CO fluxes are represented by the grey dots while soil temperature, CO₂ and H₂O fluxes are represented by the dashed line, the grey line and the blank line, respectively.



In summer, opposite to the trend observed for H₂, CO soil uptake was minimal between 6h00 to 17h00 and dominated during the night (Figure 3.6a). This diurnal cycle is attributable to a balance between microbial mediated CO soil uptake with the heat- and photo-induced productions of CO. Heat- and photo-induced CO emissions have already been observed from soils (Moxley and Smith, 1998a), lake and wetland waters (Zuo and Jones, 1997) as well as vegetations (Yonemura et al., 1999b) from a variety of ecosystems. These abiotic CO effluxes involve the photo-induced oxidation and the thermal decomposition of the organic matter such as humic acids and dissolved organic matter. On the other hand, CO soil uptake is mediated by soil microorganisms and is controlled by soil temperature, organic matter content and moisture. Importance of temperature for CO microbial soil uptake is shown in Fig. 6a, where CO deposition was correlated with soil temperature. As in the case of H₂, microbial mediated CO soil uptake as well as its diurnal cycle were considerably attenuated when soil temperature fallen below 10°C (Figure 3.6b,c).

3.9 Conclusion

H₂ and CO surface to air exchanges have been measured during one year in a rural area. On an annual basis, the investigated site acted as a net sink for H₂ and CO, with global deposition velocities of 0.15 and 0.20 cm s⁻¹, respectively. Concentrations and surface to air exchanges followed a seasonal cycle with maximal soil uptake at the end of the summer. In winter, CO was oxidized by radicals generated in the snow pack, while significant H₂ and CO emissions were measured at the snow melting period. Since the relative contribution of H₂ and CO soil uptakes remains uncertain for their global budget, more investigations are needed to characterize these processes. This is especially true for H₂ which is a promising energy source for the transport sector. Although future H₂ emissions resulting of the utilization of H₂ cells technology are still a matter of debate, further investigations about the incidences of climate and land use changes on its soil uptake are required.

3.10 Acknowledgments

L.P. would thank Environment Canada for funding this project. P.C. is grateful to the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT) for his

2005-2008 Ph.D. scholarship.

4 PRESENTATION DE L'ARTICLE 3

4.1 Mise en contexte de l'article 3

Après avoir établi le bilan annuel des flux micrométéorologiques du H₂, la suite logique des travaux amorcés à la station de St-Anicet consistait à identifier les micro-organismes du sol impliqués dans la consommation du H₂ troposphérique. Jusqu'à présent, aucun micro-organisme démontrant cette activité n'a été rapporté dans la littérature.

Puisque les micro-organismes ayant une forte affinité pour le H₂ sont inconnus, l'approche qui semblait la plus prometteuse était d'établir une corrélation entre la maturation de l'activité de consommation du H₂ et l'évolution de la population microbienne du sol. Contrairement aux essais entrepris dans le passé, les échantillons de sol étaient exposés à l'air ambiant. Le but de cette approche était d'éviter l'enrichissement de micro-organismes ayant une faible affinité pour le H₂. L'article a été accepté pour publication dans *International Society for Microbial Ecology Journal* le 15 mai 2008.

4.2 Contribution de l'étudiant à l'article 3

Le succès des travaux présentés dans l'article 3 est attribuable à l'interdisciplinarité des membres de l'équipe de recherche. Tout d'abord, le développement de la DMC fut basé sur la méthode de la chambre à flux dynamique utilisée dans le laboratoire de L. Poissant (Ph.D.) pour mesurer les flux de Hg dans l'environnement (Poissant and Casimir, 1998; Zhang et al., 2005). D'autre part, la stratégie visant à corréler la maturation de l'activité de consommation du H₂ avec la colonisation du sol par PCR-DGGE fut inspirée de travaux menés dans le laboratoire de R. Villemur (Ph.D.), où le suivi de l'implantation d'une biomasse dans des bioprocédés était entre autres corrélée à la biodégradation du pentachlorophénol (Lanthier et al., 2005) ou à l'activité de dénitrification (Labbé et al., 2003).

Le suivi de consommation du H₂ par les sols inoculés était réalisé sous la supervision de L. Poissant (Ph.D.). Les travaux entourant la caractérisation des micro-organismes en utilisant les méthodes de microbiologie classique ou moléculaire ont été

réalisés sous la supervision de R.Villemur (Ph.D.). L'étudiant a réalisé les manipulations, le traitement des données et a écrit l'article avec R. Villemur (Ph.D.) et L. Poissant (Ph.D.). L'article a aussi été vérifié par Eric Déziel (Ph.D.) et Ralf Conrad (Ph.D.).

4.3 Article 3: Isolation of *Streptomyces* sp. PCB7, the first microorganism demonstrating high-affinity uptake of tropospheric H₂

Philippe Constant^{1,2*}, Laurier Poissant², Richard Villemur¹

¹INRS-Institut Armand-Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, Canada, H7V 1B7

²Direction des sciences et de la technologie, Environnement Canada, 105 rue McGill, Montréal, Québec, Canada, H2Y 2E7

*Corresponding author

Référence : CONSTANT, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2008. Isolation of *Streptomyces* sp. PCB7, the first microorganism demonstrating high affinity uptake of tropospheric H₂. International Society for Microbial Ecology Journal, doi:10.1038/ismej.2008.59.

4.4 Résumé

La consommation du H₂ par les micro-organismes du sol est responsable de ~80% des pertes globales du H₂ troposphérique. Les études réalisées au cours des trois dernières décennies suggèrent que le dépôt sec du H₂ troposphérique est dû à des hydrogénases libres ou des micro-organismes encore inconnus ayant une forte affinité pour le H₂ (K_m inférieur à 100 ppmv). La nature exacte de ces enzymes qui seraient à l'état libre dans le sol ou des micro-organismes consommant le H₂ demeure obscure puisque l'activité n'a jamais été observée en culture pure. Dans cet article, nous présentons l'isolement du premier micro-organisme aérobic capable de consommer le H₂ à des concentrations ambiantes.

Une chambre à microcosme dynamique (DMC) a été développée pour enrichir des micro-organismes ayant une haute affinité pour le H₂. Des échantillons de sol prélevés à la station de recherche de St-Anicet ont été stérilisés et transférés dans les DMC, où ils étaient ensuite inoculés avec des extraits de sol microbiens constitués d'une biomasse soit active ou soit inactivée par stérilisation ou ajout de NaN₃. La DMC consistait en une bouteille de verre de 500 ml dont le bouchon était connecté au réseau d'échantillonnage d'un chromatographe en phase gazeuse automatique. La configuration du système permettait d'analyser alternativement la concentration de H₂ et de CO₂ à l'intérieur et à l'extérieur de la DMC, dont la phase gazeuse était continuellement renouvelée avec l'air ambiant, avec un temps de rétention hydraulique de 18 minutes. En connaissant les gradients de concentration de H₂ et de CO₂ ($\text{Conc.}_{\text{intérieure}} - \text{Conc.}_{\text{extérieure}}$), le débit de l'air circulant dans la DMC et la quantité de sol incubée, il était possible d'obtenir, en temps réel, le taux d'échange net du H₂ et du CO₂. Lorsque la concentration de H₂ ou de CO₂ était inférieure dans la DMC, il y avait consommation nette par les micro-organismes colonisant le sol. Des échantillons de sol étaient prélevés quotidiennement dans le DMC afin de corréler le développement de l'activité de consommation du H₂ à l'émergence de certains micro-organismes. Ce suivi de la microflore fut réalisé en amplifiant une portion des gènes codant pour l'ARNr 16S des bactéries et l'ARNr 18S des moisissures par PCR, dont le produit était ensuite déposé sur DGGE. Le consortium enrichi démontrant une forte affinité pour le H₂ a été échantillonné et inoculé sur différents milieux de culture. Des souches bactériennes et fongiques sélectionnées ont été isolées et testées pour leur

capacité à consommer le H₂.

Le développement d'une activité de consommation de H₂ fut observé seulement lorsque le sol stérile était inoculé avec la biomasse active, atteignant un plateau à 0,5 µg kg⁻¹ h⁻¹ après 4 jours d'incubation. L'absence de production de CO₂ lors des expériences impliquant la présence d'une biomasse stérilisée ou amendée en NaN₃ confirmait que cette dernière demeurerait inactive durant la période d'incubation. Le développement de l'activité de consommation du H₂ coïncidait à l'émergence d'un mycélium blanchâtre recouvrant le sol. Ce mycélium a donc été inoculé sur différents milieux nutritifs pour l'isoler et tester son activité de consommation du H₂. Huit souches bactériennes et deux souches de moisissures ont été isolées et identifiées selon la séquence de leurs gènes codant pour leurs ARNr 16S/18S. Des échantillons de sol stériles ont été inoculés avec chacune de ces souches isolées avant d'être transférés dans la DMC dans le but de tester leur activité de consommation du H₂. Après 10 jours d'incubation, même si la biomasse était similaire pour chacune des souches testées, seule *Streptomyces* sp. PCB7 pouvait consommer le H₂ ambiant. Après 10 jours d'incubation, l'activité de consommation du H₂ de la souche PCB7 atteignait 0,3 µg kg⁻¹ h⁻¹. Tel qu'observé lors de l'expérience impliquant la colonisation du sol par l'extrait de sol microbien mixte, la souche PCB7 formait un mycélium blanchâtre sur les particules de sol. De plus, sa détection par PCR-DGGE était effective au jour 3, le moment où la consommation de H₂ devenait significative.

L'activité de consommation du H₂ de la souche PCB7 suivait une cinétique de type Michaelis-Mentens, avec un K_m apparent de 11 ppmv et un seuil de concentration en H₂ inférieur à 0,100 ppmv, correspondant à l'activité de consommation du H₂ troposphérique observée avec des sols naturels. Une observation visuelle de la morphologie de la souche PCB7 révélait aussi que la consommation du H₂ avait lieu lors de sa phase de sporulation. Chez les streptomycètes, l'étape de sporulation constitue une réponse à l'épuisement des nutriments dans leur milieu. C'est au moment de la sporulation que ces actinomycètes synthétisent des métabolites secondaires (i.e. : antibiotiques). Considérant que l'ajout de nickel augmentait l'activité, cette dernière pourrait être un métabolisme secondaire de la souche PCB7, impliquant des hydrogénases de type NiFe. Étant donné la complexité de la régulation des gènes codant pour les

hydrogénases ainsi que l'effet pléiotrophique exercé par des gènes de régulation des métabolites secondaires chez les streptomycètes, d'autres travaux seront nécessaires pour valider cette hypothèse.

Étant le premier micro-organisme démontrant une forte affinité pour le H₂, *Streptomyces* sp. PCB7 pourrait servir d'organisme modèle pour comprendre les facteurs environnementaux influençant les pertes au sol du H₂. L'identification des hydrogénases à forte affinité de cette souche permettra de développer des outils moléculaires qui permettront ensuite d'étudier le métabolisme du H₂ et leur importance écologique.

4.5 Abstract

Microbial-mediated soil uptake accounts for ~80% of the global tropospheric dihydrogen (H₂) sinks. Studies conducted over the last three decades provide indirect evidences that H₂ soil uptake is mediated by free soil hydrogenases or by unknown microorganisms that have a high affinity for H₂. The exact nature of these hypothetical free soil enzymes or of H₂-consuming microorganisms remains elusive because the activity has never been observed in pure culture. Here we present the first aerobic microorganism able to consume tropospheric H₂ at ambient levels. A dynamic microcosm chamber was developed in order to enrich a microbial consortium with a high affinity toward H₂, from which selected bacterial and fungal strains were isolated and tested for H₂ uptake. Strain PCB7 had a H₂ consumption activity that followed a Michaelis-Menten kinetics, with an apparent K_m of 11 ppmv and a H₂ threshold concentration <0.100 ppmv, corresponding to the high affinity uptake of tropospheric H₂ observed in soil. 16S ribosomal RNA gene sequences showed that strain PCB7 is highly related to several *Streptomyces* species. H₂ consumption occurred during the sporulation period of the bacterium. Addition of nickel increased the activity, suggesting the enzymes involved in H₂ consumption belong to the NiFe uptake class of hydrogenases. Because this is the first microorganism showing a high affinity uptake of tropospheric H₂, we anticipate that *Streptomyces* sp. PCB7 will become a model organism for the understanding of the environmental factors influencing H₂ soil uptake.

4.6 Introduction

Tropospheric H₂ concentration is approximately 0.530 ppmv and its global sources

and sinks are generally assumed to be near equilibrium (Khalil and Rasmussen, 1990; Novelli et al., 1999; Simmonds et al., 2000). On an annual basis, 107 ± 15 Tg H_2 ($1 \text{ Tg} = 10^{12} \text{ g}$) originating from natural and anthropogenic processes are emitted to the troposphere (Rhee et al., 2006b). Once in the troposphere, H_2 has a lifetime of 1.4 to 2.0 years (Novelli et al., 1999; Rhee et al., 2006b), before being oxidized by hydroxyl radicals (OH^\cdot) or consumed by a microbial-mediated soil uptake. Due to its reactivity toward OH^\cdot , H_2 is considered an indirect greenhouse gas. Because H_2 and methane (CH_4) have similar OH^\cdot -mediated oxidation rate, a modification of the H_2 emission factor would exert an indirect influence on CH_4 tropospheric burden (Derwent et al., 2001; Schultz et al., 2003; Warwick et al., 2004). OH^\cdot oxidation represents $<20\%$ of the global tropospheric H_2 sinks that are largely dominated by microbial-mediated H_2 soil uptake. Recent estimates reveal that soil uptake removes 88 ± 11 Tg $H_2 \text{ yr}^{-1}$ from the troposphere (Rhee et al., 2006b). Despite their importance for tropospheric H_2 cycling, H_2 consumption reactions occurring in soils are yet to be defined.

Microbial-mediated H_2 soil uptake is a first-order reaction operating in presence of oxygen within the upper layers of the ground (Conrad and Seiler, 1981; Conrad et al., 1983c). Biological nature of H_2 soil uptake was confirmed by observing that soil heat sterilization, treatments with sodium azide (NaN_3) or fumigation with chloroform caused a significant loss of the activity (Conrad and Seiler, 1981). However, residual H_2 uptake activity persists even following soil chloroform or toluene fumigations, and this activity is often attributed to free soil hydrogenases (Conrad and Seiler, 1981; King, 2003a). According to these observations, enzymatic fractions partially purified from soils oxidized H_2 at ambient concentrations and exhibited a typical biphasic kinetics (Guo and Conrad, 2008). Biphasic kinetics of H_2 soil uptake is characterized by two distinct activities: the *high affinity activity* ($K_m < 100 \text{ ppmv}$) and the *low affinity activity* ($K_m \sim 1000 \text{ ppmv}$) (Schuler and Conrad, 1990; Häring and Conrad, 1994). The exact nature of H_2 high-affinity free soil hydrogenases or of H_2 -consuming microorganisms remains elusive. To date, only aerobic microorganisms with low affinity for H_2 have been characterized. Among them, facultative chemolithoautotrophs knallgas bacteria consume H_2 to obtain energy under specific conditions such as substrate limitation (Aragno, 1998). In the context of H_2 biogeochemical cycle, the importance of these microorganisms relies on their ability to oxidize H_2 diffusing

from legume nodules (La Favre and Focht, 1983; Maimaiti et al., 2007). Knallgas bacteria are not involved in the consumption of tropospheric H₂ because of their low affinity for H₂ (Conrad et al., 1983b).

Due to the inevitable enrichment of low affinity H₂-oxidizing microorganisms in the presence of high H₂ concentrations (Stein et al., 2005; Maimaiti et al., 2007), we developed an original approach, namely the “*dynamic microcosm chamber*” (DMC), to enrich a microbial consortium that has a high affinity for H₂. Soil samples were incubated inside the DMC wherein the headspace was continuously renewed with ambient air, while a trace gas analyzer provided real time H₂ and CO₂ emission or production rates. Instead of studying microbial populations from selected soils demonstrating H₂ uptake activity, our strategy consisted in monitoring H₂ uptake activity of sterile soil samples during their colonization by soil microbial extracts’ biomass. By combining the measurements of H₂ and CO₂ net exchange (N.E.) rates with the monitoring of the microbial population by molecular and conventional cultivation methods, it became possible to link the development of the H₂ consumption activity with the emergence of candidate H₂-oxidizing microorganisms in the soil.

4.7 Materials and methods

4.7.1 *Dynamic Microcosm Chamber*

The DMC consisted of a 500 mL heat sterilized capped glass bottle equipped with two air sampling ports: the “*ambient sample port*” provided air samples collected outside the DMC, while the “*microcosm sample port*” provided air samples from the inside of the DMC (Figure 4.1). Formation of a negative pressure inside the DMC was avoided by the presence of a “*vent*” equipped with a 0.20 µm filter in order to circumvent the contamination of the DMC by airborne microorganisms. A second 0.20 µm filter was installed on the “*ambient sample port*” to ensure the same air flow restriction at both air sampling lines. A sequenced air sampling inside and outside the DMC was obtained with a three-way solenoid valve controlled by a datalogger (CR23X Campbell Scientific[®]) with a 0-12V output signal (0V: air sample in ambient air and 12V: air sample inside the DMC). The air was circulating in the sampling network through the trace gas analyzer’s pumping system (RGA5, see next section), operated continuously with a flow rate of 40

cm³ min⁻¹. Inside the DMC, the headspace had a hydraulic retention time of 18 min. Because the analytical method is automated and has a response time of 10 minutes (see next section), H₂ concentration gradients ($[H_2]_{(DMC)} - [H_2]_{(amb)}$) were calculated every 20 minutes (72 readings a day). Soils H₂ utilization or production rates, namely *H₂ N.E. rates* (μg(H₂)·kg(soil)⁻¹·h⁻¹), were calculated following equation 1.

$$H_{2(N.E. Rate)} = \frac{[H_2]_{(DMC)} - [H_2]_{(amb.)}}{W_{(soil)}} \times Q \quad (\text{Eq. 1})$$

$[H_2]_{(DMC)}$ and $[H_2]_{(amb.)}$ are respectively the H₂ concentrations measured inside and outside the DMC (μg m⁻³), Q is the air sampling flow rate (m³ h⁻¹) and $W_{(soil)}$ is the dry weight of the soil inside the DMC (kg). Negative values mean that the soil sample acts as a net sink for H₂, while positive values are associated with net emissions. CO₂ N.E. rates were also measured and were utilized as indicators of microbial respiration and metabolic activity during the colonization of heat-sterilized soils.

Given that the air delivered inside the DMC originated from the laboratory, H₂ and CO₂ concentrations ($[H_2]_{amb.}$ and $[CO_2]_{amb.}$) respectively varied between 300-600 ppbv and 275-360 ppmv. These concentrations are similar to levels measured in the environment (Novelli et al, 1999; Tans et al, 1989). H₂ ambient concentrations were not significantly different between each set of experiments (assessed by Student's *t* tests with $\alpha = 0.05$). In the case of atypical H₂ concentrations (outliers representing less than 1% of the entire dataset), derived N.E. rates were eliminated to avoid drawbacks in the experiments.

4.7.2 Trace gas analyzer

Chromatographic RGA5 system (Trace Analytical, Maryland) was employed for H₂ and CO₂ concentrations measurements. Two detectors were mounted in parallel: the reductive gas detector (RGD) for H₂ and the flame ionization detector (FID) for CO₂. RGA5 analyzer was supplied by four different carrier gases (BOC Gas, Montréal, Canada). For the general operation of the instrument (e.g. valves movements), ultra dry zero air (60-80 psig) was used. Carrier gas consisted of UHP nitrogen (30-70 psig) and

for the FID, UHP hydrogen (20-40 psig) and UHP zero air (20-50 psig) were supplied. The analyzer was calibrated before and after each experiment using a standard gas mixture (815 ppbv H₂, 190.5 ppbv CO and 380.3 ppmv CO₂, Scott Marrin Inc., Riverside, California, USA) certified from the National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA; Climate Monitoring and Diagnostics Laboratory). Difference between the calibration factors obtained between the beginning and the end of the experiments were always <5%. Analyzer response time was 9 minutes but analyses were conducted every 10 minutes, synchronized by a datalogger (CR23X, Campbell Scientific[®]) programmed to send a “start signal” to the analyzer (Figure 4.1). The datalogger also recorded H₂ and CO₂ concentrations measured by the analyzer. Data were retrieved from the datalogger with a portable computer using PC208w 3.2 version software (Campbell Scientific[®]).

4.7.3 Soil preparation

Heat sterilized soil samples were inoculated with active (no added antimicrobial agents) or killed (heat sterilized, NaN₃) soil microbial extracts. Soil utilized for all the experiments originated from St. Anicet (Québec, Canada), a rural area where the annual cycle of the H₂ surface to air exchanges has been well documented (Constant et al., 2008a). At the sampling site, vegetation (mainly grass) was removed from an area of approximately 1 m² before the soil's first 10 cm layer was collected. The soil sample was then thoroughly mixed and conserved at 4°C in a 12 L plastic container until its utilization.

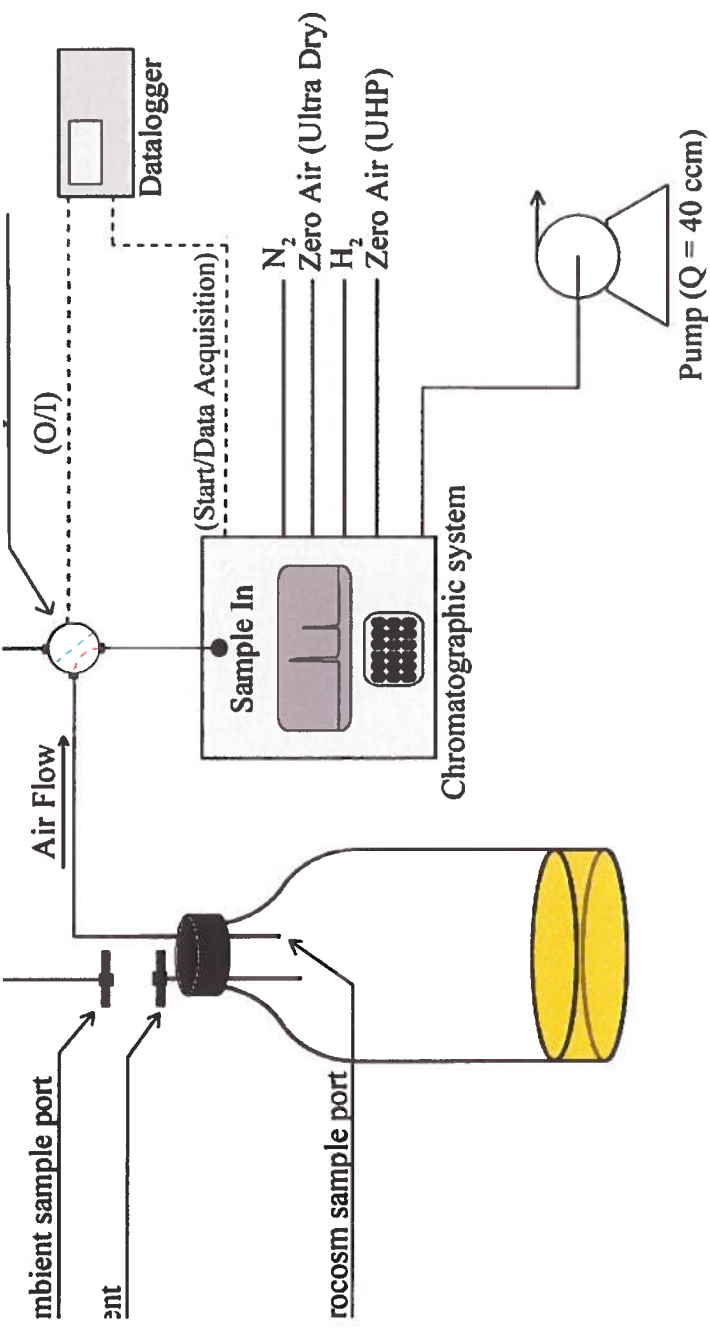


Diagram of the DMC used to measure the real time H_2 and CO_2 N.E. rates of heat sterilized soils during their microbial soil extracts.

Before each set of experiments, 60 g of soil (on a dry basis) was heat sterilized (30 min at 121°C and 1 bar, two times separated by a 24 h time interval). Once sterilized, soil samples were conserved at room temperature and utilized no more than 2 days later. Soil microbial extracts were also prepared before each set of experiments by mixing 100 g of soil in 1000 mL of sterile sodium pyrophosphate solution (0.1%) for 1 hour. Soil particles were then separated from microorganisms by centrifugation (1000 ×g, 15 min). Microorganisms in the supernatant were then concentrated by a second centrifugation (10 000 ×g, 15 min) and the pellet was suspended in 50 mL of a sterile 40% soil extract. The latter consisted of 400 g of soil suspended in 1000 L of water that was heat sterilized (30 min at 121°C and 1 bar, two times separated by a 24 h time interval) and centrifuged to remove soil particles (1000×g, 10 min).

For each set of experiments, the soil microbial extract was incubated 12 hours at room temperature under agitation. Following the incubation, 4.5 mL of this conditioned soil microbial extract was transferred into the heat sterilized soil. Sterile water was then added to the inoculated soil in order to adjust soil water content to 20%. Soil was subsequently aseptically homogenized with a heat sterilized metal spatula and transferred into the DMC to monitor real time H₂ and CO₂ N.E. rates as well as microbial communities' structure over a 10 days period.

4.7.4 Isolation of bacteria and fungi and analysis of their H₂ uptake activity

Two samples were collected. The first one was an aliquot of the active microbial extract while the second sample consisted of soil collected from the DMC after 10 days of incubation. Both of them were serially diluted (10⁰ – 10⁻⁶) in saline water and then inoculated on different cultivation media. Czapek Solution Agar (Difco™) enriched with Bacto™ yeast extract (5 g L⁻¹), Rose Bengal Agar (Difco™) and Sabouraud Dextrose Agar (Difco™) were used for fungi isolation, while R2A Agar (Difco™) and 40% soil extract agar were utilized for bacteria. All the incubations were performed at 20°C for 1 week. Twenty nine bacterial and four fungal isolates were chosen based on their morphology. They were further classified based on their restriction endonuclease digestion profiles (Sambrook and Russell, 1989) and their PCR-DGGE migration profiles (see below). One colony of the chosen isolates was picked, dispersed in sterile saline, then inoculated in heat-sterilized soil and incubated inside the DMC for a 10 days period

to verify its ability to consume ambient H₂. Enumeration of viable bacteria and fungi was performed every 48 hours by counting the colony forming units (CFU g⁻¹ soil) of diluted soil suspensions inoculated on specific nutrient media. R2A Agar (Difco™) was used for bacteria, while Czapek Solution Agar (Difco™) enriched with Bacto™ yeast extract (5 g L⁻¹) was used for fungi. Student's *t* test was conducted on a daily basis in order to confirm if H₂ concentrations measured inside and outside the DMC were equivalent (H₀: μ_{DMC} = μ_{amb}) or not (H₁: μ_{DMC} ≠ μ_{amb}). This analysis was performed to assess the statistical significance of H₂ N.E. rates observed for the isolated strains.

By following the same procedure, 10⁷ spores of *S. lividans* 1326 (wild type strain from the collection of microorganisms of the John Innes Institute) prepared as described by Hopwood et al. (1985) were also inoculated in sterile soil and incubated 10 days in the DMC in order to assess its H₂ consumption activity.

4.7.5 DNA extraction

Active soil microbial extract (500 μL) and soil collected from the DMC (~500 mg) were mixed with 350 mg of glass beads (0.25-0.50 mm in diameter), 500 μl TEP (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM EDTA, 1% polyvinylpyrrolidone), 50 μl 20% SDS and 500 μl phenol. The samples were then vortexed for 1 min and conserved at -80°C for later nucleic acid extraction. The samples were transferred into a FastPrep[®] instrument (Q-Biogene) for two series of mechanical cells disruption of 20 sec at speed 4.0 separated by a 5 min incubation on ice. The tubes were centrifuged (15 min, 16 000 ×g) and 300 μl of the aqueous phase was kept on ice. Following the addition of 300 μl TEP and 50 μl 20% SDS, a second series of mechanical cells disruption, centrifugation and aqueous phase collection was performed on the residual samples. The corresponding aqueous phase aliquots were combined, extracted with 600 μl chloroform/isoamyl alcohol (24:1) and centrifuged (5 min, 16 000 ×g). After collecting 500 μl of the aqueous phase, 167 μl of 10 M AcNH₄ were added, incubated for 20 min on ice and centrifuged (15 min, 16 000 ×g). The nucleic acids were precipitated at room temperature for 2 hours by adding 1 ml of 30% PEG-NaCl (polyethylene glycol – 1.6 M NaCl) to the supernatant. The tubes were centrifuged (15 min, 16 000 ×g) after which the nucleic acids pellets were washed with 1 ml of 70% ethanol (2 min, 16 000 ×g) and dissolved in 100 μl sterile water.

Total DNA from the bacteria and fungi isolates was extracted as described before

but TEP was replaced by TEN (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 100 mM EDTA, 150 mM NaCl).

4.7.6 PCR

PCR were performed in 50 µL reaction volumes containing the following concentrations or total amounts: 10 mM Tris-HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 10 pM of each primer, 20 µg of bovine serum albumin, 2.5 U of Taq polymerase and 10 ng (isolates) or 100 ng (soil and soil microbial extract samples) DNA. Amplifications were done in a DNA thermal Cycler (Geneamp[®] PCR System 2700, Applied Biosystems, Streetsville, ON, Canada) at 94°C for 5 min, 55°C for 5 min, followed by 35 cycles at 72°C for 45 sec, 94°C for 45 sec, 55°C for 45 sec and a final extension period of 10 min at 72°C.

16S ribosomal RNA (rRNA) genes were amplified using the PA (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') and PH (5' AAGGAGGTGATCCARCCGCA 3') primers pair that correspond to the 8 to 27 and 1521 to 1541 positions in *Escherichia coli* 16S rRNA gene sequence (Edwards et al., 1989). For PCR-DGGE experiments, the variable V3 region of 16S rRNA gene was amplified by using 341f-GC clamp (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGCGGGGCGGGGGCCTACGGGAGG CAGCAG-3') and 534r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') primers (Muyzer et al., 1993). For the fungal isolates, the V7 and V8 (partial) variable regions of the 18S rRNA genes were amplified using the NU-ssu-1196-5' (5'-GGAAACTCACCAGGTCCAGA-3') and NU-ssu-1536-3'-GC clamp (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGG CACGGGGGG-ATTGCAATGCYCTATCCCCA-3') primers (Borneman & Hartin, 2000).

16S and 18S rRNA gene sequences were compared to gene databases with BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) and FASTA (<http://www.ebi.ac.uk/fasta33/>) programs. Accession number of the 16S rRNA gene sequence of strain PCB7 is EU532017.

4.7.7 Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)

DGGE were done using the D-code system (Bio-Rad Laboratories Ltd., Mississauga, ON, Canada) with PCR products (500 ng) separated inside 8%

polyacrylamide gels (acrylamide/N,N'-methylene bisacrylamide 37.5:1) containing a linear denaturing gradient (100% denaturing gel contained 7 M urea and 40% deionized formamide). Electrophoresis was carried out using TAE running buffer (40 mM Tris-HCl, 40 mM acetic acid, 1 mM EDTA, pH 8.0) for 16 hours at 100 V and 60°C (Labbé et al., 2003). The gels were stained with ethidium bromide (10 mg/mL) and the bands were visualized with U.V. exposure. When needed, DNA fragments were isolated from the polyacrylamide gels by using “the crush and soak method” (Sambrook and Russel, 1989) and then amplified by PCR before sequencing.

4.7.8 Testing the affinity of strain PCB7 for H₂

Strain PCB7 spores were prepared as described by Hopwood et al. (1985). R2A Agar (Difco™), M9 minimal salts agar (42 mM Na₂HPO₄, 24 mM KH₂PO₄, 9 mM NaCl, 19 mM NH₄Cl, 0.2 mM MgSO₄, 2.0% glucose, 1.5% agar) and soya flour-mannitol agar (Hobbs et al., 1989) plates were inoculated with 10⁷ of these spores and incubated for 10 days at room temperature. Petri dishes covered by spore mats were transferred to enclosed systems consisting of a bottom-free 1000 ml glass bottle mounted on a plastic support. A rubber gasket sealed the bottle at the bottom of the plastic support. The enclosed system was equipped with a septum used for air sample collection and for the injection of specified amounts of H₂. H₂ N.E. rates were then calculated after addition of specified amounts of H₂ in the static headspace ([H₂]_{initial}: 0.8, 2.8, 3.1, 8.6, 8.9, 20, and 35 ppmv). Over a 1 hour time period, air samples (10 ml) were collected from the inside of the enclosed system every 10 minutes and then injected through the sample injection port of the RGA5 trace gas analyzer. H₂ consumption rates (ppmv H₂ min⁻¹) were calculated by integrating the decreasing slopes of H₂ concentrations measured. The reproducibility of the H₂ and CO₂ analyses was assessed by repeated manual injections of the certified standard gas. The standard deviations were <5% for H₂ and CO₂ (n = 6). No H₂/CO₂ production or consumption were observed for blank experiments.

4.7.9 NiCl₂ assays

H₂ consumption activity of strain PCB7 was determined in triplicate on non-amended and nickel-amended R2A Agar. R2A Agar (Difco™) formulation was modified by adding 10 μM NiCl₂. Non-amended and NiCl₂-amended media were inoculated with

10^7 spores of the strain PCB7 and incubated 10 days at room temperature. Petri dishes covered by spore mat were then transferred to enclosed systems described in the previous section. The headspace (720 ml) of the enclosure was subsequently flushed with ambient air and the H_2 concentrations of the static headspace were monitored over a 1 hour period to calculate the H_2 uptake rates as described before. As H_2 consumption activity distribution did not follow a normal distribution, non parametric Wilcoxon-Mann-Whitney test was performed to confirm if activities observed on conventional and on $NiCl_2$ -modified R2A Agar were equivalent ($H_0: \mu_{\text{conventional}} = \mu_{\text{nickel}}$) or not ($H_1: \mu_{\text{conventional}} \neq \mu_{\text{nickel}}$).

4.8 Results

4.8.1 Enrichment of a consortium having a high affinity toward H_2

The DMC is based on the respirometry principle. Sterile soil samples were inoculated with active or killed soil microbial extracts and were subsequently incubated under a dynamic headspace, continuously renewed with ambient air. During soil colonization, an automated analyzer provided real time H_2 and CO_2 N.E. rates while soil samples were collected on a daily basis to monitor the evolution of the microbial populations. Development of H_2 soil uptake activity occurred only in the presence of active biomass as no significant H_2 exchanges were observed when the soil was inoculated with heat-sterilized or NaN_3 -inactivated biomass (Figure 4.2a). In the DMC inoculated with active microbial extract, H_2 N.E. rate reached $-0.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ at day 4 and remained relatively stable until the end of the incubation period (Figure 4.2a). Monitoring the CO_2 N.E. rate provided indications on the microbial metabolic state inside the DMC. CO_2 net production was only detected in the presence of active biomass (Figure 4.2b). Since no nutrients were added into the soil during the incubation period, CO_2 net production decreased but remained positive until the end of the experiment (Figure 4.2b). The establishment of bacterial biota in the sterile soil was also monitored by PCR-DGGE. Migration profiles evolved over the first 3 days and then remained unchanged until the end of the incubation period (Figure 4.2c).

4.8.2 Isolation of bacteria and fungi from the DMC

Examination of soil particles from the DMC revealed that H_2 consumption activity

correlated with the appearance of a white mycelium (Figure 4.3a). This mycelium was sampled and inoculated on different cultivation media in order to isolate microorganisms and investigate their H₂ consumption potential. Eight bacterial (designated PCB1 to PCB8) and two fungal (designated PCM1 and PCM2) isolate types were obtained. Analysis of the PCR-amplified 16S and 18S rRNA gene sequences revealed that the isolates belonged to β -Proteobacteria, γ -Proteobacteria and Actinobacteridae for the bacterial strains and to Ascomycetes for the fungi (Table 4.1). Fungal and bacterial strains were inoculated in sterile soil samples and transferred to the DMC. Even if biomass was similar for each set of experiments ($0.1 - 1.0 \times 10^9$ CFU g⁻¹ after 10 days of incubation), the ability to consume ambient H₂ was restricted to *Streptomyces* sp. PCB7 (Table 4.1). H₂ N.E. rates calculated for the other isolated strains were negligible since H₂ concentrations measured inside and outside the DMC were not significantly different (*t* test, $\alpha > 0.05$). *Streptomyces* spp. growth follows a complex series of differentiation steps showing similarities with those of filamentous fungi. As observed in the DMC inoculated with the active microbial extract (Figure 4.3a), strain PCB7 also formed a white mycelium on soil particles. H₂ consumption activity of strain PCB7 followed a reproducible pattern represented at Figure 4.2a. For the first three days following strain PCB7 inoculation in sterile soil, its viable cell counts increased by two log units (up to 10^8 CFU g⁻¹_(dw)), and then remained essentially unchanged until the end of the incubation period. H₂ consumption activity was significant at day 3 when spore forming aerial mycelium began to be observable on soil particles and reached ~ 0.3 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ after 10 days of incubation.

PCR-DGGE analyses confirmed the enrichment of strain PCB7 in the DMC inoculated with active microbial extract. Relative intensity of the DNA band corresponding to strain PCB7 increased after 3 days of incubation while H₂ consumption activity began to be significant (Figure 4.2c). 16S rRNA gene sequence of *Streptomyces* sp. PCB7 showed >99% identity to that of several *Streptomyces* species, including *S. lividans*. *S. lividans* 1326 has been inoculated in sterile soil and incubated for 10 days in the DMC, but no significant H₂ consumption activity was observed.

Table 4.1. H₂ consumption activity of the cultivable bacteria and fungi. H₂ N.E. rates observed for the bacteria and fungi strains isolated from the DMC. Measurements were conducted during 10 days (standard deviations are given in parentheses).

Strains	Affiliation (Accession Number)	Identity (%) ⁽¹⁾	H ₂ N.E. rates (μg kg ⁻¹ h ⁻¹)
PCB1	<i>Flavobacterium saccharophilum</i> (AM230491.1)	96	0.027 (0.013)
PCB2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> (AY512614.1)	96	-0.018 (0.029)
PCB3	<i>Variovorax paradoxus</i> (EU169152.1)	98	0.0036 (0.028)
PCB4	<i>Flavobacterium frigidimaris</i> (AB183888.1)	95	0.065 (0.15)
PCB5	<i>Agromyces cerinus</i> (AM410680.1)	88	0.021 (0.014)
PCB6	<i>Arthrobacter ramosus</i> (X80742.1)	94	-0.020 (0.028)
PCB7	<i>Streptomyces</i> sp.⁽²⁾	99.6	-0.19 (0.13)
PCB8	<i>Rhodococcus erythropolis</i> (EU479709.1)	98	-0.08 (0.08)
PCM1	<i>Penicillium</i> sp. ⁽²⁾	100	0.015 (0.036)
PCM2	<i>Fusarium solan</i> i(EF621487.1)	94	-0.010 (0.042)

⁽¹⁾ Percentage of identity with the most related 16S or 18S rRNA gene sequence at the species level. Sequences from uncultured or unaffiliated species were not considered. Affiliations were based on the almost completed 16S rRNA gene sequences, but with 306 nucleotides for the 18S rRNA gene sequences.

⁽²⁾ Sequences from more than one *Streptomyces* and *Penicillium* species were highly identical to the PCB7 and PCM1 sequences, respectively.

Figure 4.2. Simultaneous monitoring of H₂ and CO₂ N.E. and microbial population dynamics. Time series for (a) H₂ and (b) CO₂ N.E. rates measured during the colonization of sterile soil inoculated by an active biomass (circles), a heat sterilized (squares) and NaN₃ (diamonds) inactivated biomass, or by a cell suspension of *Streptomyces* sp. PCB7 (triangles). Each point represents an average of 72 measurements (standard deviations were < 0.1 µg kg⁻¹ h⁻¹ for H₂ and < 0.9 mg kg⁻¹ h⁻¹ for CO₂). (c) PCR-DGGE profile of the 16S rRNA gene sequences of DNA extracted from soil samples collected daily (day 1 to day 10) inside the DMC during the colonization of the sterile soil with the active biomass. The arrow indicates the band corresponding to *Streptomyces* sp. PCB7 (assessed by co-migration, and by extracting, followed by PCR-reamplification and DNA sequencing of the corresponding band).

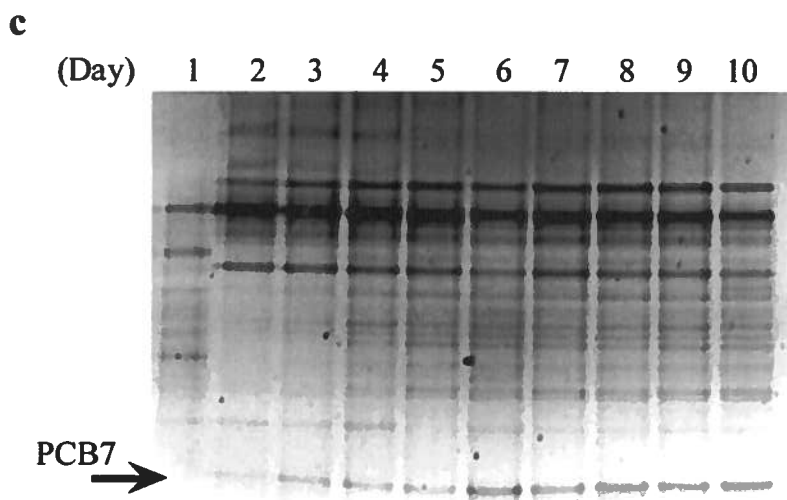
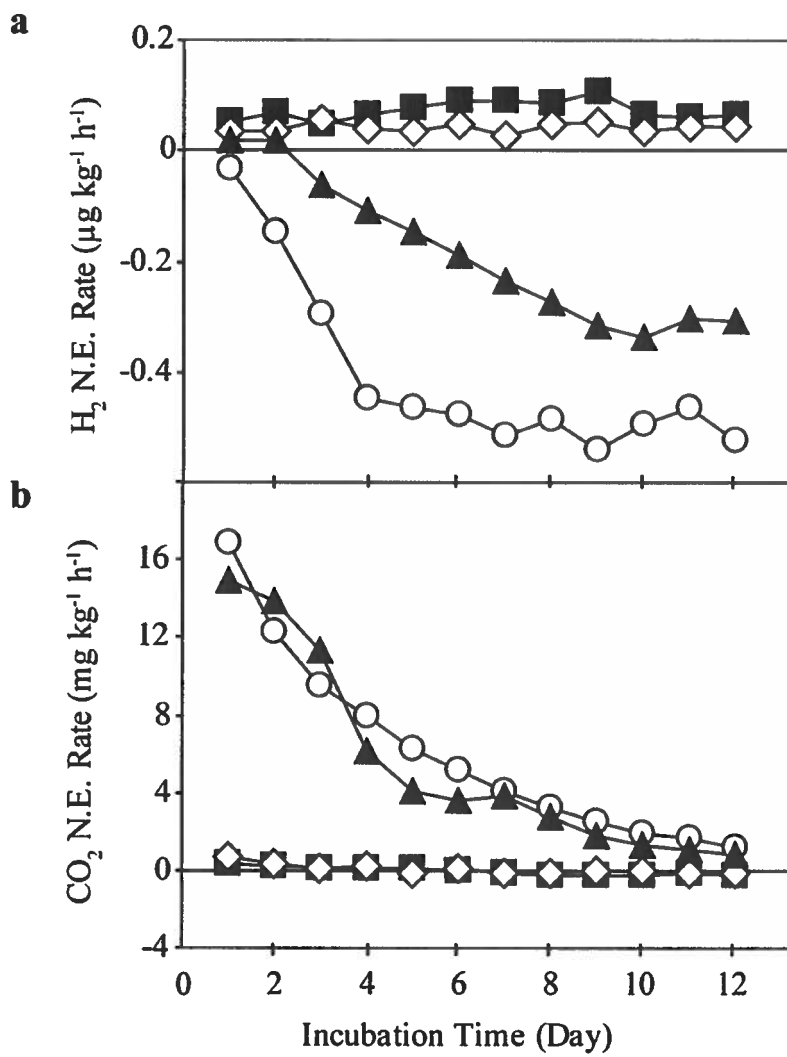


Figure 4.3. Visual observation of the soil acting as net sink for H₂ and the developmental stage of *Streptomyces* sp. PCB7. (a) Representative of soil particles covered with white mycelium (10X magnification) after 10 days of incubation inside the DMC. (Panels b-d) Microscopic (1000X) observations of the developmental stages of *Streptomyces* sp. PCB7 inoculated on R2A Agar are also shown. (b) 24 hours following its inoculation, strain PCB7 was growing as a substrate mycelium that penetrated into the media. (c) After 48 hours, strain PCB7 was producing structures known as aerial mycelium consisting of hyphae that were protruding into the air. At that time, chains of cells that were metamorphosing into spores were visible. (d) After 72 hours, gray pigmentation of the aerial mycelium, associated to the maturation of the spores was visible and ambient H₂ consumption began to be significant (H₂ consumption rate: 5.0±1.2 ppbv min⁻¹). Scale bar = 1 mm (a), 10 μm (b-d).

a

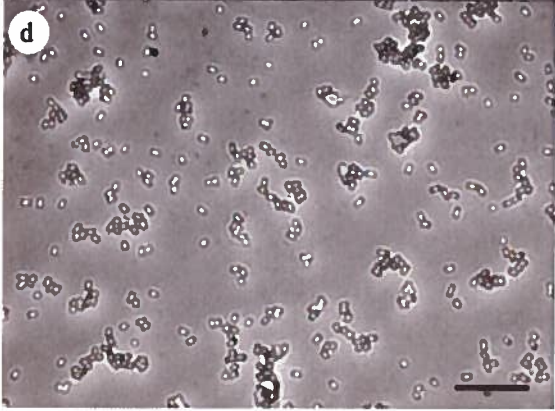
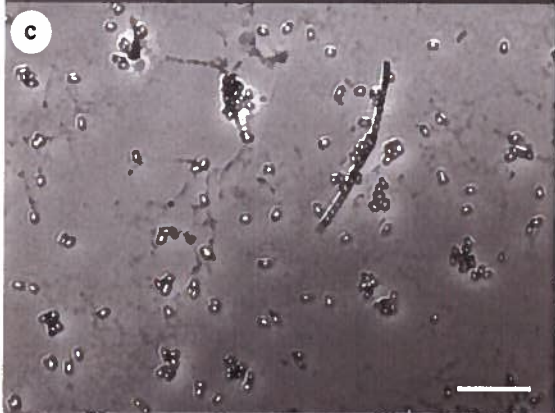
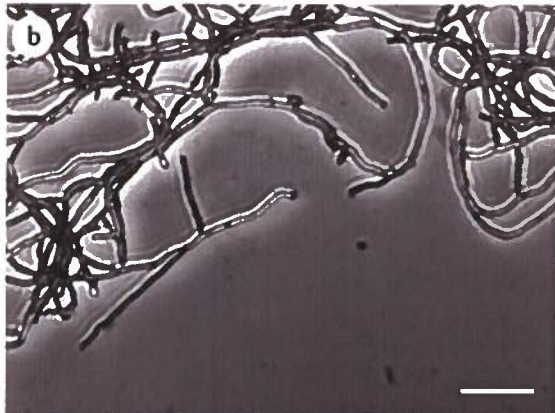
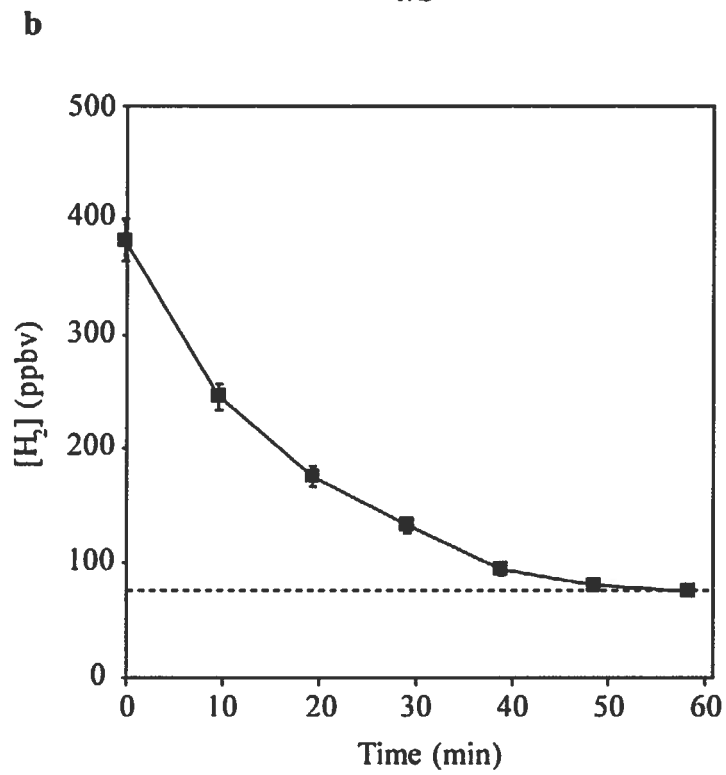
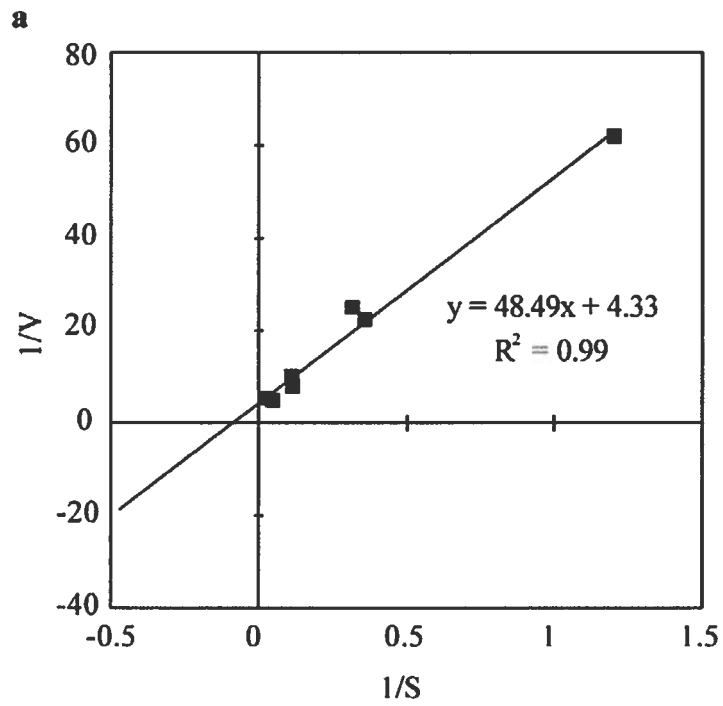


Figure 4.4. Kinetic of the H₂ consumption activity of strain PCB7. (a) Measurement of H₂ consumption rate (V; ppmv min⁻¹) as function of the initial H₂ concentration (S; ppmv) shown by a Lineweaver-Burke plot. The K_m was determined at the x axis intercept (-1/K_m) (b) Typical trends of the H₂ headspace concentrations when a spore mat of strain PCB7 was transferred in an enclosed system. Dotted line represents the H₂ threshold ([H₂] approximately 80 ppbv).



4.8.3 Characterization of the H₂ consumption by strain PCB7

Strain PCB7 grew well on R2A, M9 minimal salts and soya flour-mannitol agar, but only the R2A Agar medium sustained its H₂ consumption activity. Nickel amendment to R2A Agar media doubled the H₂ consumption activity of strain PCB7 that was respectively 5.7±1.1 and 12±2.6 ppbv min⁻¹ after 10 days of incubation on non-amended and NiCl₂-amended R2A Agar. As observed with *Streptomyces* spp., strain PCB7 grew following well-defined series of differentiation. Growth began with substrate mycelium development and was followed by the formation of aerial mycelia and then, sporulation. H₂ uptake was neither observed at the growing phase of the substrate mycelia (Figure 4.3b) nor during the formation of the sporulating aerial mycelia (Figure 4.3c). The activity was only detected at day 3, corresponding to the terminal stage of sporulation (Figure 4.3d).

H₂ consumption rate of strain PCB7 was determined as a function of increasing H₂ concentrations. The activity followed a typical Michaelis-Menten kinetics, with an apparent K_m of 11 ppmv (Figure 4.4a). Exposure of the spore mat to ambient H₂ concentration allowed the determination of strain PCB7 H₂ threshold concentration. H₂ threshold refers to the minimal H₂ concentration below which no more H₂ consumption was observed when strain PCB7 was incubated under a static headspace. Under these conditions, strain PCB7 reduced the H₂ levels from 0.400 ppmv to a minimal H₂ concentration <0.100 ppmv in less than 1 hour (Figure 4.4b).

4.9 Discussion

Microbial-mediated soil uptake is the main sink for tropospheric H₂ (Rhee et al., 2006b). The reaction is operating in presence of oxygen within the upper layers of the ground, but the microorganisms responsible for this activity remain to be identified (Conrad, 1996). Aerobic H₂ consumption by soil microorganisms exposed to concentrations 2-3 orders of magnitude higher than typical tropospheric H₂ level has been extensively studied. These investigations presented important findings concerning the fertilization effect of the knallgas bacteria and their role in the consumption of H₂ produced as nitrogen fixation by-products (e.g. Maimaiti et al., 2007), but provided no information about the microorganisms that have high affinity for H₂. In this article, we report a novel approach to study H₂ soil uptake under ambient concentration. The strategy combined the simultaneous monitoring of H₂ N.E. rate with microbial population during the colonization of a soil sample exposed to

ambient atmosphere. By considering that soils with poor organic matter content sustain the highest H₂ soil uptake (King, 2003a; King and Weber, 2008), neither carbon nor nutrient amendments were applied to the soil during the incubation period. The strategy enabled the isolation of *Streptomyces* sp. PCB7, the first aerobic bacterium consuming tropospheric H₂.

Strain PCB7 was the only isolate capable of ambient H₂ consumption. However, due to the difference between the H₂ N.E. rates of the active microbial extract (H₂ N.E. rate of -0.50 μg kg⁻¹ h⁻¹) and of strain PCB7 (H₂ N.E. rate of -0.30 μg kg⁻¹ h⁻¹), other microorganisms could be involved in the H₂ consumption activity. The inability of the other isolates to consume ambient H₂ (Table 4.1) suggests that they did not contribute to the H₂ uptake observed in the DMC. DGGE migration profiles representing bacterial (Figure 4.2c) and fungal (data not shown) diversity of the soil inoculated with the active microbial extract revealed the presence of approximately 15 and 6 bands, respectively. Because only 8 bacterial and 2 fungal isolate types were obtained, it is reasonable to assume that other H₂-consumers were present among the uncultured bacteria and fungi.

16S rRNA gene sequence of *Streptomyces* sp. PCB7 was >99% identical to that of several *Streptomyces* species, but no data are currently available regarding their specific H₂ consumption activity. We tested one of these species, *S. lividans* 1326, for its ability to consume H₂. No such activity was observed, which suggest the genes encoding for the enzymes involved in H₂ consumption or those involved in its regulation have been lost due to genetic instability of the chromosome (Volff and Altenbuchner, 1998) or have been acquired by strain PCB7 following horizontal gene transfer in the environment. Soil is the primary reservoir of *Streptomyces* spp. that are typically heterotrophs, but thermophilic chemolithotrophs have also been identified. These aerobic thermophilic species are either facultative chemolithotrophs (Bell et al., 1987; Kim et al., 1998) or obligate chemolithoautotrophs (Gadkari et al., 1990) utilizing H₂ and CO/CO₂ as sole energy and carbon sources under a headspace constituted of >45% H₂. So far, they are the only *Streptomyces* spp. known to use H₂, but their H₂ oxidation activity remains to be characterized. Considering the H₂ consumption activity of strain PCB7 and the chemolithotrophic H₂ oxidation of thermophilic species, further investigations should be performed to verify the H₂ consumption activity of other *Streptomyces* species.

Table 4.2. Summary of known H₂ affinity and threshold of microorganisms or environmental conditions for H₂ uptake.

Microorganisms/Environmental conditions	Threshold (ppmv)	K _m (ppmv)	References
Environmental samples (aerobic)			
Microbial soil extract	<0.100	10-50	Conrad, 1996
Particles fraction (freshwater)	N/A	90	Conrad et al., 1983a
Extracted soil enzymes	N/A	5.0	Guo and Conrad, 2008
<i>Streptomyces</i> sp. PCB7 (aerobic)	<0.100	11	This study
Knallgas bacteria (aerobic)			
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	>0.500	1200	Klüber and Conrad, 1993
<i>Paracoccus denitrificans</i>	0.83	1565	Häring and Conrad, 1991
<i>Variovorax</i> sp.; <i>Flavobacterium</i> sp.; <i>Burkholderia</i> sp.	N/A	1000	Maimaiti et al., 2007
<i>Ralstonia eutrophus</i>	8.0	>1000	Conrad et al.1983b
<i>Xanthobacter</i> spp.	1.3-6.7	>1000	Conrad et al., 1983b
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1.0	N/A	King, 2003b
Anaerobic environments			
Halo-respiration	<0.100	130 ±65	Smatlak et al., 1996
Nitrate respiration	<0.100	1565	Lovley and Goodwin, 1988; Häring and Conrad, 1991
Iron(III) respiration	0.400	319	Lovley et al., 1989; Klüber and Conrad, 1993
Sulfate reduction	5-25	1336	Lovley and Goodwin, 1988; Kristjansson et al., 1982
Methanogenesis	9-13	8000	Lovley and Goodwin, 1988; Kristjansson et al., 1982
Acetogenesis	180	6682	Hoehler et al., 1998; Krumholtz et al., 1999

To be considered as a potential tropospheric H₂ consumer, a microorganism should have a threshold which is below 0.530 ppmv, corresponding to the typical tropospheric H₂ concentration, and a high affinity for H₂ ($K_m < 100$ ppmv) (Conrad, 1996). H₂ consumption of strain PCB7 followed a typical Michaelis-Mentens kinetics, with an apparent K_m of 11 ppmv and a threshold concentration < 0.100 ppmv. Because the affinity of strain PCB7 for H₂ has been tested after 10 days of incubation on solid R2A Agar, drawbacks related to H₂ phase transfer limitation or to a growth of the strain during H₂ consumption rate measurements (Robinson and Tiedje, 1982) were considered negligible. Owing to its high affinity toward H₂, strain PCB7 represents the first candidate for the elucidation of microbial-mediated tropospheric H₂ soil uptake. H₂ is utilized by physiologically distinct groups of aerobic and anaerobic microorganisms, but none of them can be considered tropospheric H₂ consumers. Because of their use of H₂ for ATP generation and CO₂ fixation in presence of oxygen, knallgas bacteria have been previously considered potential tropospheric H₂ consumers. Several knallgas bacteria have been studied, but none of them demonstrated the capacity of consuming tropospheric H₂ because of their low affinity toward H₂ (Table 4.2). For instance, *Mycobacteria smegmatis* has been identified as a potential high affinity H₂ oxidizer. However, there is no evidence showing its consumption of tropospheric H₂ (King, 2003b). In liquid culture, *M. smegmatis* has been shown to reduce H₂ headspace concentrations from 30 ppmv to a threshold concentration of 1.0 ppmv (King, 2003b), as reported for other knallgas bacteria however known for their low affinity for H₂ if one considers their K_m (Table 4.2). H₂ generated in anaerobic environments, such as flooded soils and sediments, has a very short lifetime. In these environments, H₂ is maintained at a threshold concentration determined by the energetic yield of the terminal electron accepting process (Table 4.2) (Lovley and Goodwin, 1988; Hoehler et al., 1998). For instance, nitrate-, iron- and halogen-respiring bacteria have low H₂ threshold (Table 4.2), but their importance in tropospheric H₂ soil uptake is currently considered negligible. Juxtaposition of the anaerobic and aerobic zones is limiting the H₂ transfer from the troposphere to anaerobic zones. Since aerobic microorganisms have a high affinity for H₂, H₂ originating from the troposphere should be depleted before reaching the anaerobic environments. In the H₂ biogeochemical cycle context, anaerobic H₂-oxidation occurring in sediments and flooded soils is limiting the H₂ emissions to the water column and to the

global atmosphere (e.g. Schütz et al., 1988).

Previous investigations provided indirect evidences that free soil hydrogenases are responsible for tropospheric H₂ soil uptake activity, but their exact nature remains elusive (Conrad and Seiler, 1981; Guo and Conrad, 2008). It is known that [NiFe]-hydrogenases are generally involved in H₂ uptake (Shima and Thauer, 2007). Nickel availability has been shown to control the H₂ uptake activity of knallgas bacteria that synthesize this class of hydrogenases (Friedrich et al., 1981; Brito et al., 1994; Ureta et al., 2005). Because nickel is involved in the maturation process of these enzymes, its presence in excess enhances the formation of their active form (Böck et al., 2006; Leach and Zamble, 2007). Consequently, the raise of H₂ consumption rate on NiCl₂-amended R2A Agar media suggests that strain PCB7's H₂ consumption activity is mediated by enzymes belonging to the NiFe uptake class of hydrogenases.

Streptomyces spp. are well-known for their ability to produce a broad variety of enzymes and antibiotics, namely secondary metabolites, during the formation of aerial mycelium and its sporulation. These secondary metabolites are secreted in the environment to protect the growing colony from competing microorganisms in limited nutrient conditions (Chater, 2006). Mature spores of *Streptomyces* spp. are characterized by the development of pigments, some of which being antibiotics (Chater, 1993). Strain PCB7 H₂ uptake activity was only observed at the terminal sporulation stage (Figure 3D), corresponding to the emergence of gray pigmented spores (data not shown). By considering the data presented, we hypothesize that stains PCB7 synthesizes H₂ high affinity [NiFe]-hydrogenases that are either used by the spores or released in the environment during the formation of the aerial mycelia, supporting the proposed concept of free soil hydrogenases (Conrad and Seiler, 1981; Guo and Conrad, 2008).

Exposure of microorganisms to ambient H₂ concentration and the absence of nutrients amendments to the soil provided suitable conditions for the enrichment of a bacterium that has a high affinity for H₂. Other high affinity tropospheric H₂-consumers would be identified using the innovative approach presented in this article with soil samples collected from different ecosystems. Because the exact nature of the H₂ soil uptake activity is still unknown, purification of the putative high affinity hydrogenases will be crucial in future investigations. As only low affinity hydrogenase gene and protein sequences are

available in current database, identification of these enzymes is needed to develop specific molecular tools. Afterward, it will become possible to investigate the metabolism and the ecological importance of the microorganisms that consume tropospheric H₂. To conclude, identification of the hydrogenases involved in tropospheric H₂ soil uptake would be valuable for the bioelectrochemical sector in order to improve the performance of existing biofuel cells (Vincent et al, 2006).

4.10 Acknowledgements

P.C. is grateful to the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies and the Fondation Armand-Frappier for his Ph.D. scholarship and would like to thank Catherine Ormeaux for her technical assistance. The authors are grateful to the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (R.V.) and Environment Canada (L.P.) for funding. Special thanks are also expressed to Pr. Ralf Conrad and Pr. Eric Déziel for their critical comments about the results and to Ariane Bisailon, Josée Castonguay-Vanier and Julie Disnard who kindly revised grammar and style of the manuscript. *Streptomyces lividans* 1326 was kindly provided by Pr. Rolf Morosoli (INRS-Institut Armand-Frappier).

PARTIE II: Le MeHg dans le manteau neigeux subarctique

5 REVUE DE LITTÉRATURE DU MERCURE

Le mercure (Hg) est le seul métal qui se retrouve sous forme liquide en conditions de température et de pression ambiante. Dans l'environnement, diverses réactions chimiques et enzymatiques font passer le Hg de la forme inorganique à organique ainsi que de l'état oxydé à réduit. Ce sont d'ailleurs ces transformations qui déterminent la compartimentation du Hg : les formes volatiles sont transférées dans l'atmosphère, tandis que les formes réactives sont solubles dans l'eau et ont plutôt tendance à se lier à la matière organique présente dans l'eau, les sédiments et le sol. Étant donné la mobilité et la toxicité du Hg, la compréhension de son cycle biogéochimique est cruciale pour évaluer l'impact d'une modification de son budget sur la contamination des écosystèmes ainsi que sur la santé humaine.

Cette section vise à résumer l'état actuel des connaissances quant aux différentes transformations et mécanismes de transfert du Hg dans l'environnement. En premier lieu, la description des différentes formes du Hg ainsi que l'identification de ses principales sources permettront d'établir les bases théoriques nécessaires à la compréhension de son cycle biogéochimique qui est ensuite analysé en détails. Une attention particulière sera portée sur le transfert du Hg d'origine anthropique vers les écosystèmes polaires ainsi que sur les processus impliqués dans le dynamisme du Hg qui sont spécifiques à ces régions.

5.1 La spéciation et la toxicité du Hg

La masse atomique du Hg est $200,59 \text{ g mol}^{-1}$ et puisque son point de fusion est à $-38,9^\circ\text{C}$, il est sous forme liquide à température ambiante. Dans l'environnement, le Hg peut se retrouver sous la forme inorganique (Hg_i) et organique (Hg_{Org}), chacune ayant un profil de toxicité qui lui est spécifique. Le Hg_i est principalement sous forme élémentaire (Hg^0) et mercurique (Hg^{2+}). La forme cationique se combine à des anions inorganiques tels que le soufre (HgS : cinabre), le chlore (HgCl^+ , HgCl_2 , HgCl_3^-), l'oxygène (HgO) et les hydroxyles (HgOH^+ , $\text{Hg}(\text{OH})_2$, $\text{Hg}(\text{OH})_3^-$), ainsi que la matière organique. Contrairement au Hg^{2+} , le Hg^0 est peu soluble dans l'eau et se retrouve principalement dans l'atmosphère due à sa forte pression de vapeur. Actuellement, les risques d'exposition au Hg^0 concernent principalement les mineurs utilisant la technique de

l'amalgamation de l'or par le Hg. Ces travailleurs peuvent être exposés à de l'air contenant des concentrations en Hg^0 qui peuvent dépasser jusqu'à 1000 fois les normes d'exposition recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (Malm, 1998). Dans les poumons, le Hg^0 inhalé est rapidement oxydé en Hg^{2+} qui tend à s'accumuler surtout dans le cerveau, le foie et les reins. Étant donné son affinité pour les groupements thiol, le Hg^{2+} peut se lier aux protéines (résidus cystéine), causant ainsi une modification de leur structure tertiaire, d'où une altération de leur fonction. Les risques d'exposition au Hg^{2+} concernent aussi des cas isolés impliquant entre autres l'utilisation de certains produits médicamenteux. Par exemple, des cas d'empoisonnement au Hg^{2+} ont été signalés aux États-Unis chez des adolescents suivant un traitement dermatologique avec une lotion dont la formulation contenait du chlorure de mercure (Weldon et al., 2000). Les symptômes associés à l'exposition au Hg_i sont surtout associés à des désordres neurologiques et à diverses pathologies, incluant des irritations pulmonaire ou cutanée. Toutefois, ceux-ci varient en fonction de la dose inhalée ou absorbée (Clarkson, 2002; Guzzi et La Porta, 2008).

Les formes de Hg_{Org} incluent le monométhyle mercure (MeHg ; CH_3Hg^+), le diméthyle mercure (DiMeHg ; $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}^0$), l'éthyle mercure ($\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$) et le phényle mercure ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$). Dans l'environnement, c'est le MeHg qui est le plus abondant. Les formes dissoutes du MeHg forment des liaisons avec des anions inorganiques tels que le soufre (CH_3HgS^-), le chlore (CH_3HgCl), et les hydroxyles (CH_3HgOH), ainsi que la matière organique. Le MeHg est une neurotoxine qui affecte principalement le système nerveux central, mais aussi le foie et les reins. Cette neurotoxine est transmise de la mère à son fœtus où elle s'accumule ensuite dans le cerveau, occasionnant ainsi des retards dans le développement de l'enfant (Grandjean et al., 1997). Le MeHg est liposoluble et contrairement au Hg_i , il a tendance à se bioaccumuler dans la chaîne alimentaire (Figure 5.1). Chez les humains, la consommation de poissons constitue donc le principal risque d'exposition au MeHg . Santé Canada a d'ailleurs établi une norme fixant une concentration maximale de $0,5 \mu\text{g/g}$ en Hg total pour les poissons vendus à des fins de consommation.

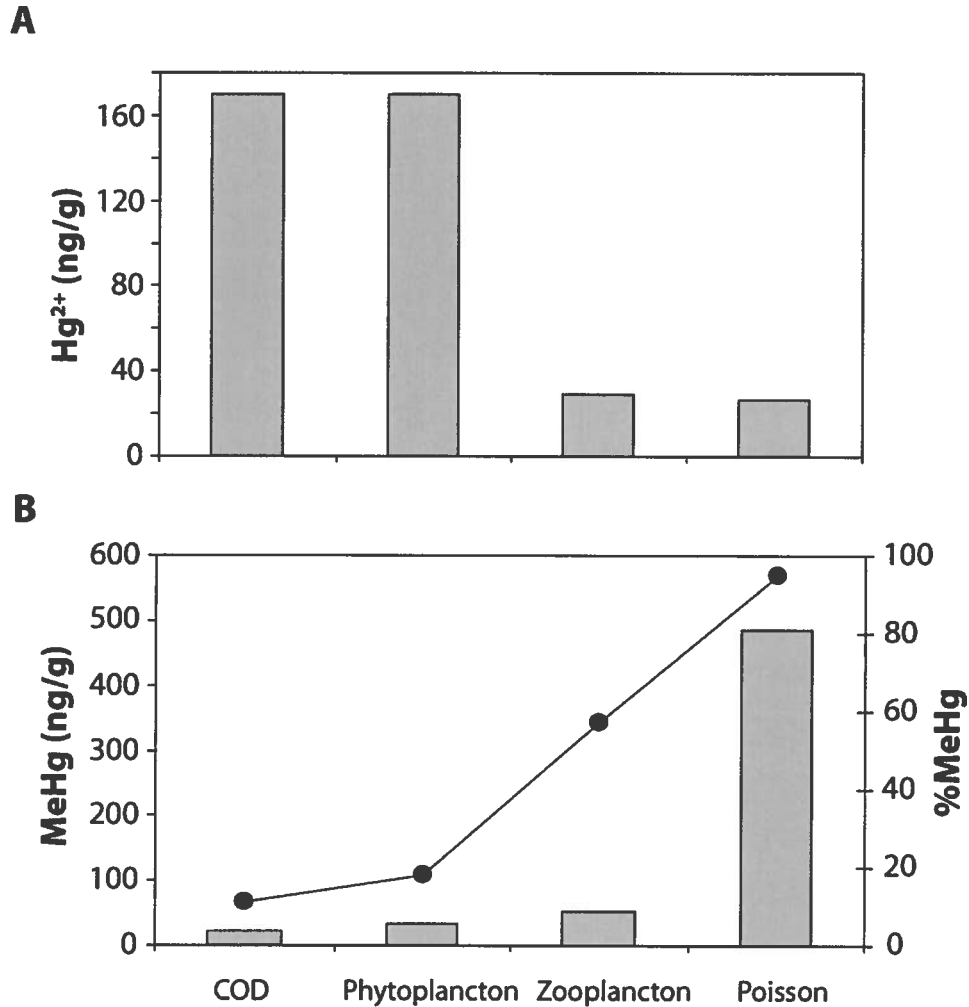


Figure 5.1. Profil typique de l'accumulation du Hg_I (A) et du MeHg (B) dans les réseaux trophiques lacustres (à partir des données de Watras et al. [1998]). Le pourcentage du Hg total retrouvé sous la forme de MeHg est aussi représenté (trait). Pour ce calcul, il fut assumé que tout le Hg dissous dans l'eau était complexé au carbone organique dissous (COD).

5.2 Les sources du Hg détecté dans l'environnement

Le Hg est un métal qui se retrouve naturellement dans la croûte terrestre, à une concentration moyenne de 40 ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (Wedepohl, 1995). Les concentrations de Hg total ($\text{Hg}_I + \text{Hg}_{\text{Org}}$) observées dans le sol peuvent cependant dévier de ce niveau de base

suite au dépôt atmosphérique du Hg d'origine naturelle ou anthropique (Guedron et al., 2006). Le Hg_{Org} représente moins de 10% du Hg total détecté dans le sol ou les sédiments. Dans l'atmosphère, le Hg d'origine naturelle provient d'émissions par les volcans et les sources hydrothermales, les feux de forêt ainsi que l'évasion du Hg des écosystèmes terrestres et aquatiques (Brunke et al., 2001; Pyle and Mather, 2003; Gustin et al., 2008). Il existe peu d'inventaires faisant état de ces émissions naturelles qui représenteraient un facteur d'émission global d'au moins 2500 tonnes an^{-1} de Hg (Nriagu, 1989; Lindberg et al., 2007).

La combustion du charbon, l'extraction de l'or, la fonderie des métaux, la production de ciment et l'incinération des déchets contribuent pour la plus grande part des émissions anthropiques du Hg. Il fut récemment estimé que 2200 tonnes de Hg d'origine anthropique étaient émises annuellement dans l'atmosphère (Pacyna et al., 2006). Étant donné les efforts qui sont investis pour réduire les émissions de Hg, son facteur d'émission global tend à diminuer (Pacyna et al., 2006). Les pays de l'Asie, tels que la Chine, font cependant exception. En fait, leur facteur d'émission du Hg d'origine anthropique a plutôt augmenté à un taux de 2,9% par année entre 1995 et 2003, dû à leur utilisation du charbon comme source d'énergie (Wu et al., 2006).

5.3 Les transformations du Hg dans l'environnement

Le cycle biogéochimique du Hg est complexe puisque les différentes voies de transformations impliquées dans le cycle sont rarement unidirectionnelles et dépendent de l'activité de micro-organismes et/ou de réactions chimiques qui sont influencées par plusieurs facteurs environnementaux. Le but de cette section est de résumer l'état actuel des connaissances pour chacune des étapes du cycle biogéochimique (Figure 5.2).

5.3.1 Le Hg dans l'atmosphère

L'atmosphère est le compartiment de la biosphère où le Hg se retrouve principalement dans un état transitoire. Un des principaux intérêts motivant l'étude du Hg atmosphérique est d'établir le lien entre ses émissions et son dépôt atmosphérique dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. Puisque les réactions entraînant la production du MeHg ont lieu principalement en milieu aquatique, le dépôt atmosphérique du Hg exerce une influence considérable sur la concentration de Hg détectée dans le biota aquatique.

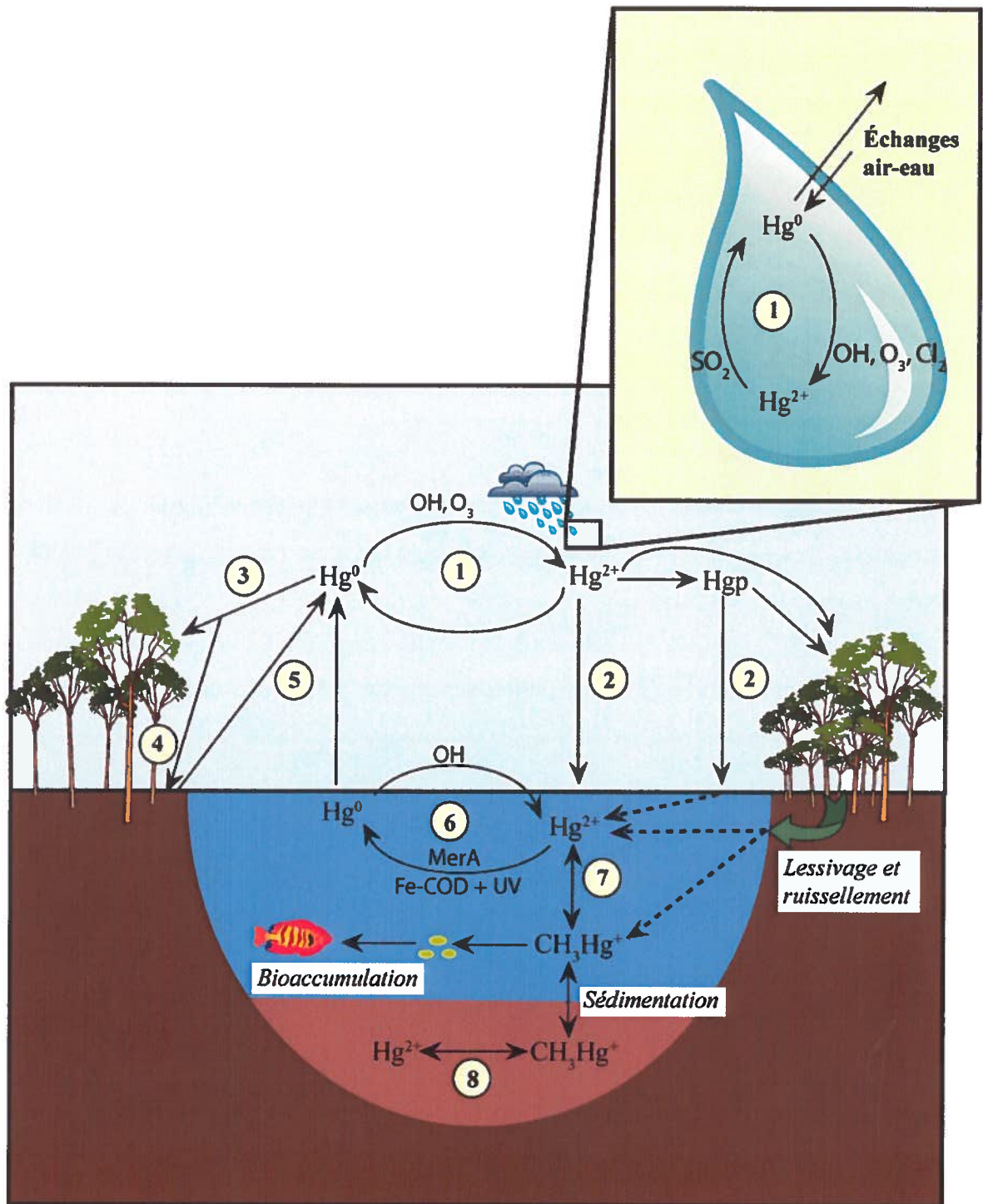


Figure 5.2. Schématisation du cycle du Hg dans l'environnement. Chacune des étapes du cycle est identifiée par un chiffre dont les explications données dans le texte font référence.

Tableau 5.1. Concentration typique des différentes formes de Hg retrouvées dans l'atmosphère de régions éloignées des centres urbains.

Spéciation du Hg atmosphérique ⁽¹⁾	Concentrations typiques (ng m ⁻³)	Références
Hg ⁰ (GEM)	1,7	Slemr et al., 2003
Hg ²⁺ (RGM)	0,0030	Poissant et al., 2005
Hgp	0,026	Poissant et al., 2005
MeHg	0,0030 à 0,022	Lee et al., 2003

⁽¹⁾Voir le texte pour les détails concernant la nomenclature utilisée

5.3.1.1 Le Hg inorganique

Plus de 98% du Hg atmosphérique se retrouve sous la forme du mercure élémentaire gazeux (GEM, Hg⁰), le reste étant sous forme réactive gazeuse (mercure réactif gazeux; RGM ou Hg²⁺) ou adsorbé sur des particules (mercure particulaire; Hgp contenant du Hg⁰ et du Hg²⁺) (Tableau 5.1). Contrairement au GEM, qui a une durée de vie atmosphérique de 0,5 à 2 ans, les espèces réactives du Hg sont rapidement lessivées de l'atmosphère via les précipitations (dépôt humide) ou suivant leur affinité pour les surfaces humides, les particules et la végétation (dépôt sec). Les réactions impliquées dans les transformations d'oxydoréduction du Hg atmosphérique (Figure 5.2, point 1) ont donc un rôle important à jouer dans le cycle du Hg puisqu'elles contrôlent en quelque sorte la compartimentation du Hg dans la biosphère. Ces réactions sont complexes et font intervenir plusieurs agents oxydants (i.e. : O₃, OH[·], Cl₂) et agents réducteurs (i.e. : SO₃²⁻) autant dans les phases gazeuse et aqueuse de l'atmosphère (Lin and Pehkonen, 1999; Seigneur et al., 2006).

La mesure des échanges surface-air du Hg⁰, du RGM et du Hgp a permis d'établir la vitesse de dépôt sec de chacune de ces formes du Hg atmosphérique, soit de 0.19 cm s⁻¹, 2,1 cm s⁻¹ et 7,6 cm s⁻¹ respectivement (Poissant et al., 2004). Le RGM et du Hgp sont donc les formes qui se déposent le plus rapidement dans l'environnement (Figure 5.2, point 2). Étant donné sa solubilité, le Hg réactif est transféré sur les surfaces humides, mais la végétation contribuerait aussi à son dépôt sec en le captant directement de

l'atmosphère (Poissant et al., 2004). Ce captage par la végétation serait aussi impliqué dans le dépôt sec du Hg^0 (Figure 5.2, point 3) (Poissant et al., 2008) qui tend également à se déposer sur le sol lorsque ce dernier contient de faibles concentrations en Hg (Gustin et al., 2006) (Figure 5.2, point 4).

Le dépôt atmosphérique du Hg n'est cependant pas unidirectionnel puisque ce dernier peut être réémis vers l'atmosphère suivant des réactions de réduction photo induite (Figure 5.2, point 5), être transféré au biota ou demeurer dans l'environnement sous une forme non biodisponible. Étant donné la présence ubiquitaire du Hg naturel dans l'eau, le sol, la végétation et les sédiments, il est cependant difficile de déterminer la proportion de Hg déposé qui est réémise vers l'atmosphère. Cette question a été abordée d'une manière élégante avec un amendement en $^{202}\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ qui fut appliqué à un écosystème forestier où moins de 10% du $^{202}\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ appliqué était réémis vers l'atmosphère, le reste étant surtout associé à la végétation (Hintelmann et al., 2002). Il fut récemment proposé que le délai entre le dépôt atmosphérique du $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ et sa réémission sous forme de $\text{Hg}^0_{(\text{g})}$ est causé par une maturation du Hg déposé au cours de laquelle il s'associe à des composés facilitant sa réduction photo induite (Xin et al., 2007).

Le développement d'une instrumentation automatisée pour faire le suivi des concentrations de mercure total gazeux (TGM = GEM + RGM) a permis l'établissement de bases de données documentant les variations temporelles et spatiales du Hg atmosphérique. Dans l'atmosphère, les concentrations de TGM auraient augmenté de manière significative entre les années 1970 et 1980, pour atteindre une concentration maximale dans les années 1980 (Slemr et al., 2003). La réduction des émissions globales de Hg (Pacyna et al., 2006) a eu un effet perceptible sur les concentrations de TGM atmosphériques qui ont atteint leur plus bas niveau en 1996, et demeurent stables depuis ce temps entre 1,5 et 1,7 ng m^{-3} dans l'hémisphère Nord et entre 1,1 et 1,3 ng m^{-3} dans l'hémisphère Sud (Slemr et al., 2003; Kim et al., 2005; Steffen et al., 2005; Wängberg et al., 2007).

5.3.1.2 Le Hg organique

Le Hg atmosphérique peut aussi se retrouver sous la forme organique (MeHg, DiMeHg), mais seulement à de faibles concentrations qui représentent moins de 1% du TGM (Tableau 5.1). Ce Hg_{Org} provient de sources anthropiques et naturelles. Par

exemple, les biogaz produits dans les sites d'enfouissement des déchets peuvent être enrichis en DiMeHg, avec des concentrations aussi importantes que 100 ng m^{-3} , alors que les concentrations de TGM peuvent atteindre les $10\,000 \text{ ng m}^{-3}$ (Lindberg et al., 2005). Les sols saturés en eau sont également une source de DiMeHg qui serait produit par les BRS (Baldi et al., 1995; Wallschläger et al., 1995). Le DiMeHg est volatil et a une courte durée de vie atmosphérique dû à son oxydation par les radicaux de chlore (Cl^{\cdot}) et de nitrate (NO_3^{\cdot}) qui génèrent du MeHg (CH_3HgCl) ou du HgO comme sous-produits, respectivement (Sommar et al., 1996; Sommar et al., 1997; Lin and Pehkonen, 1999).

5.3.2 Le Hg dans l'eau et les sédiments

Dans le milieu aquatique, le $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ issu du dépôt atmosphérique ou d'origine géologique peut être réduit en $\text{Hg}^0_{(\text{aq})}$ (Figure 5.2, point 6), transformé en MeHg (Figure 5.2, point 7), ou simplement se lier à la matière organique dissoute ou particulaire. La distribution des concentrations de Hg ainsi que sa spéciation dans le milieu aquatique est cependant hétérogène et dépend autant de facteurs physico-chimiques que biologiques.

5.3.2.1 Les réactions d'oxydoréduction du Hg inorganique

Les réactions d'oxydoréduction du Hg_I ayant lieu dans le milieu aquatique sont importantes puisqu'elles contrôlent la biodisponibilité du Hg pour les micro-organismes impliqués dans la production du MeHg. Le Hg_I passe de l'état oxydé à réduit par des réactions de nature biotiques et abiotiques. Dans le milieu aquatique, la transformation du $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ en $\text{Hg}^0_{(\text{aq})}$ (mercure gazeux dissous; DGM) est une stratégie employée par certains micro-organismes pour détoxifier leur environnement du Hg (Figure 5.2, point 6). Cette réduction du Hg est réalisée par les micro-organismes ayant acquis une résistance à ce métal, conférée par l'opéron *mer*. L'opéron *mer* est constitué de gènes codant pour des protéines de régulation (MerR), de transport (MerP et MerT) et pour la réduction du $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ (MerA) (Figure 5.3). Les micro-organismes résistants au Hg ont été détectés non seulement dans les environnements riches en Hg, tels que les sources hydrothermales (Vetriani et al., 2005), mais aussi dans des écosystèmes lacustres exempts de contamination par le Hg (Siciliano et al., 2002). Toutefois, le rôle de ces micro-organismes dans le cycle biogéochimique du Hg n'est pas encore bien défini. Certains suggèrent que le DGM détecté dans les écosystèmes aquatiques provient en partie de

l'activité de MerA (Siciliano et al., 2002), mais il n'existe encore aucune preuve directe pour appuyer cette hypothèse. Considérant les faibles concentrations de $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ présentes dans les écosystèmes aquatiques non contaminés ($\sim 10 \text{ ng L}^{-1}$) et la concentration minimale nécessaire pour activer la transcription de l'opéron *mer* par MerR (2000 ng L^{-1} ; Ralston and O'Halloran, 1990), des essais en environnements contrôlés seront nécessaires pour confirmer l'importance réelle de l'activité de MerA. La réduction du $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ photo induite serait la réaction la plus importante pour expliquer la formation du DGM détecté dans les eaux de surface. Effectivement, plusieurs études ont démontré que les concentrations de DGM augmentent lorsque l'eau est exposée aux rayons solaires. Cette réaction de réduction impliquerait entre autres des complexes fer-COD formant des composés fortement réducteurs lorsqu'ils sont irradiés par les rayons ultraviolets (Zhang and Lindberg, 2001) (Figure 5.2, point 6).

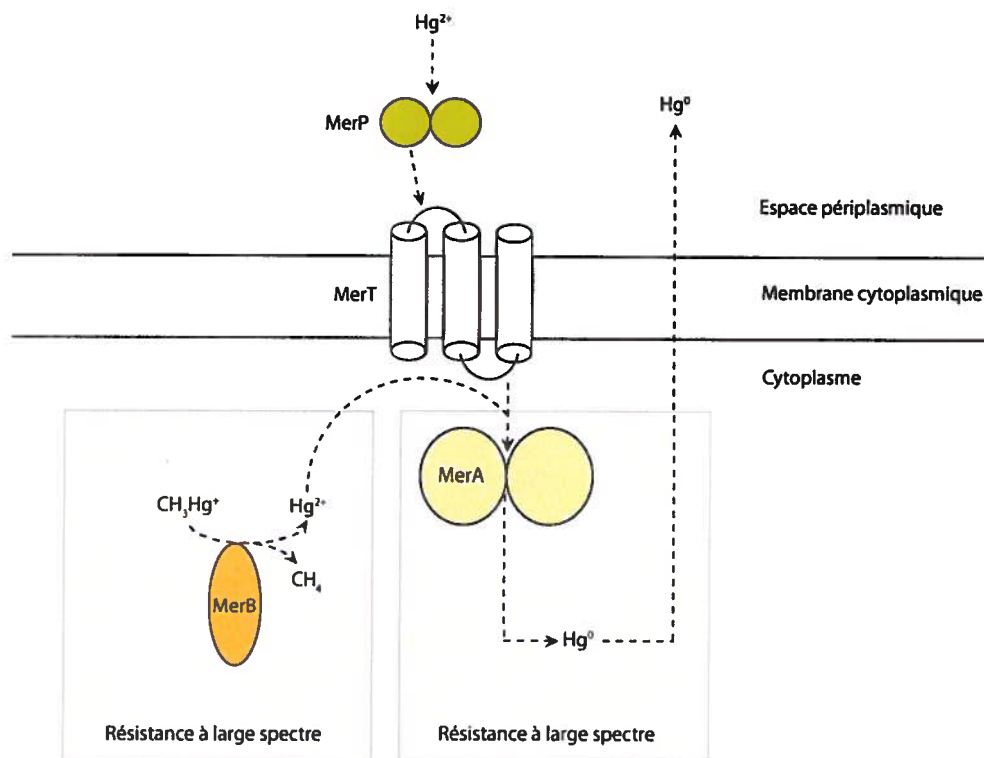


Figure 5.3. Schématisation des mécanismes de résistance au Hg des bactéries conférés par l'opéron *mer*. Le schéma est adapté de celui de Osborn et al., 1997.

Quel que soit son origine, le DGM produit dans le milieu aquatique peut être soit

transféré à l'atmosphère ou être oxydé pour reformer le $\text{Hg}^{2+}_{(\text{aq})}$ de départ. L'oxydation du DGM photo induite a été observée autant en eau douce (Lalonde et al., 2001) qu'en eau salée (Costa et Liss, 2000). Cette réaction est due à la production de molécules réactives dans l'eau exposée aux rayons solaires (Figure 5.2, point 6). Les concentrations de DGM détectées dans le milieu aquatique sont donc déterminées par un certain équilibre entre les réactions d'oxydoréduction du Hg dissous.

5.3.2.2 La méthylation du Hg

La méthylation du Hg a été observée autant en aérobie qu'en anaérobie, mais les connaissances actuelles de la microbiogéochimie du Hg suggèrent que les sédiments anaérobiques procurent les conditions optimales pour cette activité (Figure 5.2, point 7). Étant donné que la production du MeHg par des échantillons de sédiments enrichis de HgCl_2 était conditionnelle à la présence d'une biomasse active, la méthylation du Hg fut d'abord considérée de nature biotique (Jensen and Jernelöv, 1969). Actuellement, ce sont les BRS qui sont considérées comme les principales responsables de la production du MeHg. Leur importance fut observée suite à des amendements en molybdate dans des échantillons de sédiments où une inhibition de 95% de l'activité de méthylation du Hg fut observée (Compeau and Bartha, 1985). La réaction exacte impliquée dans la formation du MeHg demeure toujours inexplicée, mais il s'agirait d'un métabolisme fortuit. Il fut proposé que le groupement méthyle (CH_3) transféré au Hg proviendrait de la vitamine B_{12} via l'activité d'une méthyltransférase (Berman et al., 1990; Choi and Bartha, 1993; Choi et al., 1994), mais cette voie métabolique demeure hypothétique puisque l'enzyme n'a toujours pas été purifiée pour confirmer son activité. Même si les BRS sont considérées comme les principales responsables de la méthylation du Hg, d'autres micro-organismes ont aussi démontré une telle activité. Effectivement, il fut observé que des bactéries réductrices du fer telles *Geobacter* spp. et *Desulfuromonas* spp., pouvaient produire du MeHg dans les sédiments et en laboratoire (Fleming et al., 2006; Kerin et al., 2006). La méthylation du Hg a aussi été observée chez d'autres bactéries, moisissures et levures physiologiquement diversifiées (Vonk and Sijpesteijn, 1973; Yannai et al., 1991), mais leur rôle dans l'environnement n'a toujours pas été établi. Des essais réalisés en laboratoire ont même montré que des algues (Pongratz and Heumann, 1998) et des macrophytes (Göthberg and Greger, 2006) pouvaient produire du MeHg, sans toutefois

confirmer l'absence de micro-organismes lors des incubations.

Même s'il est difficile de faire la part entre la nature biotique et abiotique du MeHg produit dans l'environnement, il est connu que la voie abiotique est possible. Des études en laboratoire ont révélé que l'acide acétique (Gårfeldt et al., 2003) et les acides humiques (Weber, 1993) pouvaient être des précurseurs du MeHg. Pour sa part, la vitamine B₁₂ peut méthyler le Hg (Bertilsson and Neujahr, 1971), mais des évidences indirectes suggèrent que cette voie de méthylation n'est pas dominante dans l'environnement. Par exemple, une comparaison du taux de méthylation du Hg par un extrait cellulaire de *Desulfovibrio desulfuricans* LS par rapport à un extrait de vitamine B₁₂ démontrait que la voie non enzymatique avait un rendement négligeable par rapport à l'extrait cellulaire (Choi et al., 1994). Actuellement, il est généralement accepté que le MeHg détecté provienne de réactions de nature biotique et abiotique. Les réactions abiotiques pourraient cependant avoir un rôle significatif dans des microenvironnements spécifiques, tels que l'eau de précipitations (Hammerschmidt et al., 2007).

Un des facteurs les plus importants affectant la formation du MeHg dans l'environnement est sa biodisponibilité. La diffusion du Hg²⁺ à travers la paroi cellulaire des micro-organismes est un facteur limitant pour la production de MeHg. La solubilité du Hg est quantifiée en utilisant le coefficient octanol-eau (K_{OW}) qui réfère au rapport de sa solubilité dans l'octanol et l'eau (K_{OW} = Solubilité octanol/Solubilité eau). Le K_{OW} tend vers 0 pour les solutés hydrophiles et augmente pour ceux qui sont hydrophobes. Dans les eaux anaérobiques, la complexation du Hg avec les sulfures contrôle la biodisponibilité du Hg. En trop forte concentration, les sulfures forment des complexes solubles avec le Hg (HgHS₂⁻, HgS₂²⁻) qui sont non biodisponibles (Benoit et al., 1999). Des études en laboratoire ont d'ailleurs établi que le HgS⁰ dissous serait la forme biodisponible pour la méthylation du Hg en anaérobie (Benoit et al., 2001).

Dans les eaux oxygénées, le pH et la salinité de l'eau influencent la liaison du Hg avec les OH⁻ et les Cl⁻. Lorsque le pH est élevé, le Hg réactif dissous dans l'eau douce se retrouve sous la forme Hg(OH)₂ qui diffuse peu dans les membranes (K_{OW} = 0,5), tandis qu'une augmentation de la salinité favorise la formation de HgCl_x (HgCl⁺, HgCl³⁻, HgCl₂⁰), où le HgCl₂⁰ est le complexe qui diffuse le plus facilement à travers les membranes (K_{OW} = 3,3) (Morel et al., 1998). Dans les milieux aquatiques naturels, le Hg

est surtout lié à la matière organique et c'est la compétition entre les ions $H^+_{(aq)}$ et $Hg^{2+}_{(aq)}$ pour la matière organique qui pourrait expliquer pourquoi les taux de production de MeHg sont plus importants dans les lacs acides (Miskimmin et al., 1992).

5.3.2.3 La déméthylation du MeHg

Les concentrations de MeHg détectées dans l'environnement sont le résultat d'un équilibre entre les réactions de méthylation du Hg_I et de déméthylation du MeHg (Pak and Bartha, 1998). Indépendamment de la présence ou non de l'oxygène, le MeHg peut être déméthylé suivant des voies biologiques et abiotiques (Figure 5.2, point 8). Il existe deux voies impliquées dans la déméthylation biologique du MeHg : la voie oxydative et la voie réductrice. La voie réductrice est réalisée par les micro-organismes ayant acquis une résistance au Hg à large spectre conférée par l'opéron *mer* complet, incluant *merB* qui code pour une "*organomercurial lyase*". Cette voie génère du méthane et du Hg^{2+} comme sous-produits de dégradation (Figure 5.3). Dans le cytoplasme, MerA réduit ensuite le Hg^{2+} en Hg^0 , qui diffuse ensuite hors de la cellule. La voie de dégradation oxydative du MeHg est moins bien caractérisée, mais impliquerait l'utilisation du groupement CH_3 comme source de carbone, générant du Hg^{2+} et du CO_2 comme sous-produits de dégradation (Oremland et al., 1991).

L'existence d'une dégradation du MeHg abiotique fut proposée suite à des expériences impliquant une incubation d'échantillons d'eau naturelle filtrée (0,20 μm) exposés ou non aux rayons solaires naturels. Ces expériences, réalisées dans différents lacs tempérés (Sellers et al., 1996) et arctiques (Hammerschmidt and Fitzgerald, 2006), démontraient une perte du MeHg après deux jours d'incubation pour les échantillons filtrés et non filtrés exposés à la lumière. Le mécanisme exact impliqué dans cette déméthylation du MeHg photo induite est toujours inconnu, mais des essais en laboratoire suggèrent l'implication des OH^\cdot (Chen et al., 2003). L'importance de ces réactions est cependant mitigée puisqu'une analyse du cycle diurne a révélé que les concentrations de MeHg de l'eau de surface d'un lac pouvaient augmenter durant les heures d'ensoleillement (Siciliano et al., 2005).

5.4 Le Hg dans l'Arctique

La séquence "émission → dépôt → réémission" explique pourquoi le Hg est considéré comme un polluant global. L'essor démographique et industriel a exercé un impact significatif sur le niveau de contamination du biota arctique. À titre d'exemple, la concentration en Hg total détectée dans les tissus de poissons et mammifères marins de l'Arctique excède parfois les limites canadiennes recommandées pour la consommation (Lockhart et al., 2005). Pour les autochtones, cette contamination du biota représente un risque neurotoxique réel causant entre autres des problèmes de vision (Saint-Amour et al., 2006) et d'apprentissage (Grandjean et al., 1997). Une analyse de la physique et la biologie de la biosphère suggèrent même que l'Arctique risque de devenir encore plus susceptible aux contaminants d'origine anthropique, dû au changement global déclenché par l'évolution du climat (Macdonald et al., 2005). Effectivement, l'exposition du biota arctique aux contaminants est attribuée à des phénomènes complexes impliquant leur transport par les masses d'air et les courants marins (Macdonald et al., 2000), le ruissellement (Leitch et al., 2007) et même les espèces migratoires (Blais et al., 2005).

5.4.1. La contamination de l'Arctique et son origine anthropique

L'exposition des écosystèmes arctiques au Hg d'origine anthropique peut être évaluée avec le suivi de la variation spatio-temporelle des concentrations du Hg dans les sédiments ainsi que le biota. L'analyse du profil des concentrations du Hg total de carottiers de sédiments prélevés dans différents lacs en haute latitude suggérait que le dépôt atmosphérique du Hg avait augmenté de 2 à 3 fois suite à la révolution industrielle (Lockhart et al., 1998; Fitzgerald et al., 2005). Dans un même ordre d'idée, l'analyse de la concentration en Hg total de divers tissus, tels les plumes d'oiseaux de proies (Dietz et al., 2006a) et le pelage d'ours polaire (Dietz et al., 2006b) conservés dans des musées et prélevés lors de campagnes d'échantillonnage plus récentes, révélait une corrélation entre le début de l'ère de l'industrialisation et l'augmentation des concentrations de Hg total. Par exemple, une comparaison des concentrations de Hg total de dents de béluga de l'époque actuelle avec celles de l'ère préindustrielle suggère que 80-95% du Hg présent chez le béluga actuel serait d'origine anthropique (Outridge et al., 2002).

Même si les résultats obtenus avec les différentes approches permettent d'établir

une certaine relation entre l'activité anthropique et l'augmentation de l'exposition des écosystèmes arctiques au Hg, il est difficile de discriminer l'influence des facteurs naturels et anthropiques sur les tendances observées. Dans le cas des sédiments, par exemple, la hausse de la production primaire lacustre en réponse à l'évolution du climat pourrait avoir influencé les profils de sédimentation du Hg suite à une modification du taux de capture du Hg atmosphérique par les algues (Outridge et al., 2007).

5.4.1.1 Quelle est la voie empruntée par le Hg ?

Malgré la diminution des concentrations atmosphériques du TGM observée depuis les années 1980 (Slemr et al., 2003), ainsi que la diminution des dépôts humides du Hg enregistrée au nord de l'Europe (Wängberg et al., 2007), la teneur en Hg du biota arctique continue à augmenter. Un des défis des chercheurs contemporains est donc d'identifier le vecteur responsable de ce transfert du Hg d'origine anthropique au biota arctique. Une des voies de contamination possible est le dépôt du Hg atmosphérique, particulièrement lors des événements de lessivage du Hg atmosphérique printaniers.

5.4.2 Les événements de lessivage du Hg atmosphérique

La chimie de l'atmosphère des régions en haute latitude subit d'importants bouleversements au levé du soleil polaire où les espèces réactives halogénées d'origine marine prennent le contrôle des réactions photochimiques ayant lieu dans la couche limite planétaire. Parmi ces halogènes réactifs, le brome réactif (Br^\cdot) occupe une place prépondérante. Ces molécules réactives proviennent de la photodissociation d'espèces halogénées organiques et inorganiques accumulées dans le manteau neigeux qui sont ensuite larguées dans la troposphère via un mécanisme auto catalytique (Figure 5.4). Ces mécanismes auto catalytiques impliqueraient une photodissociation de composés halogénés inorganiques et organiques, générant des Br^\cdot , BrCl qui seraient ensuite réduits en $\text{Br}_{2(g)}$ via l'activité d'agents oxydants tels le HO_2^\cdot (Mozurkewich, 1995; Tang and McConnell, 1996; Spicer et al., 2002). Suite à la formation de polynies ou d'ouvertures dans la glace, la convection de l'air transfère aussi les composés halogénés organiques, tels le CHBr_3 produit par les micro- et macro algues (Sturges et al., 1993; Laturnus, 2001), dans la troposphère où ils sont ensuite photodissociés alimentant ainsi le réservoir de Br^\cdot et BrO (Figure 5.4). Au moment du levé du soleil polaire, la troposphère de

l'Arctique subit un très faible mélange vertical à cause du faible rayonnement solaire. C'est donc cette absence de turbulence qui permet d'avoir des concentrations suffisantes de composés halogénés réactifs pour bouleverser la photochimie oxydative en basse atmosphère.

Une des premières conséquences attribuée à ces changements de la chimie de l'atmosphère fut les événements de lessivage de l'ozone (O_3) troposphérique (ELOA). Au levé du soleil polaire, une baisse périodique des concentrations d' O_3 troposphérique (de 30-40 à 0 ppbv) était enregistrée à Alert (Canada) lorsque du brome particulaire était détecté dans des échantillonneurs à aérosols (Barrie et al., 1988). Presque dix ans suivant cette découverte des ELOA, le déploiement d'un analyseur de TGM à la station d'Alert révélait l'existence des événements de lessivage du mercure atmosphérique (ELMA) (Schroeder et al., 1998). Accompagnés des ELOA, les ELMA consistent en une oxydation du Hg^0 atmosphérique en Hg réactif par les molécules halogénées réactives telles que le $Br\cdot$ et le BrO (Figure 5.4), quoique la voie d'oxydation par les $Br\cdot$ serait la plus favorable (Goodsite et al., 2004). Les ELMA sont donc accompagnés d'un changement radical de la spéciation du Hg atmosphérique. Les concentrations du Hg^0 descendent de leur concentration typique de 1.6-1.8 $ng\ m^{-3}$ à des concentrations presque nulles, tandis que les espèces réactives du Hg augmentent de 0,002 $ng\ m^{-3}$ jusqu'à des concentrations aussi importantes que 0.3 to 0.9 $ng\ m^{-3}$ (Lu et al., 2001; Lindberg et al., 2002; Skov et al., 2004). Les ELMA sont des phénomènes de surface, où le lessivage ne s'étend généralement pas plus haut que 1 km en altitude (Tackett et al., 2007).

En observant la distribution des concentrations des BrO obtenus avec le satellite GOME (Figure 5.5) et la distribution des concentrations en Hg total de la neige de surface dans les régions de l'Arctique, il fut proposé que les ELMA affectaient non seulement la région d'Alert, mais aussi un large périmètre autour du cercle polaire (Lu et al., 2001). Des études subséquentes ont effectivement montré que les ELMA avaient aussi lieu dans les régions subarctiques (Poissant and Pilote 2003), en Alaska (Lindberg et al., 2002), en Norvège (Berg et al., 2003), au Groenland (Skov et al., 2004) et en Antarctique (Ebinghaus et al., 2002). Ces découvertes ont eu un impact majeur dans la quête du

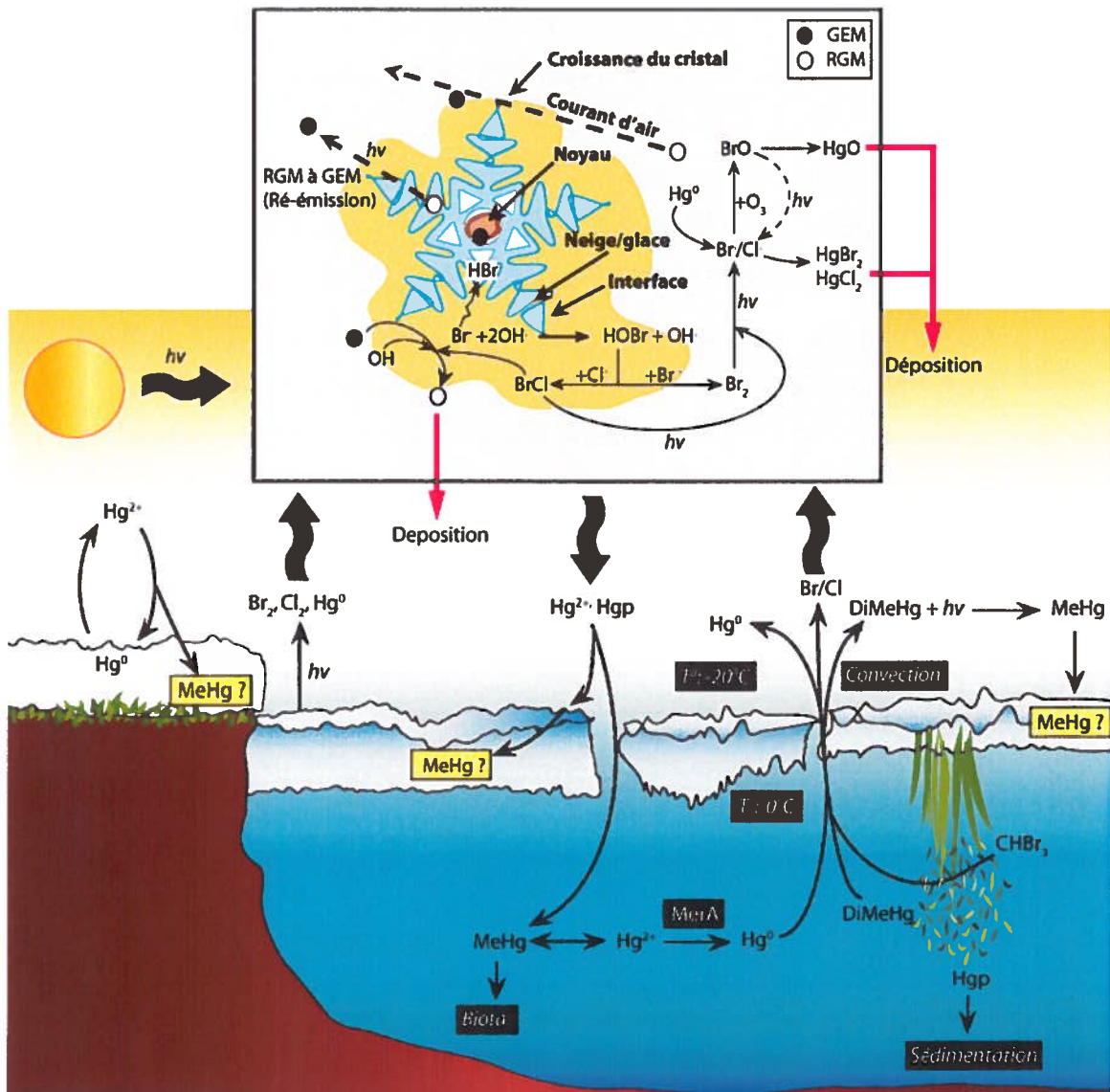


Figure 5.4. Schématisation du cycle biogéochimique du Hg lors des ELMA ayant lieu dans les régions polaires (adapté de Lindberg et al., 2002; Steffen et al., 2007; Brooks et al., 2008).

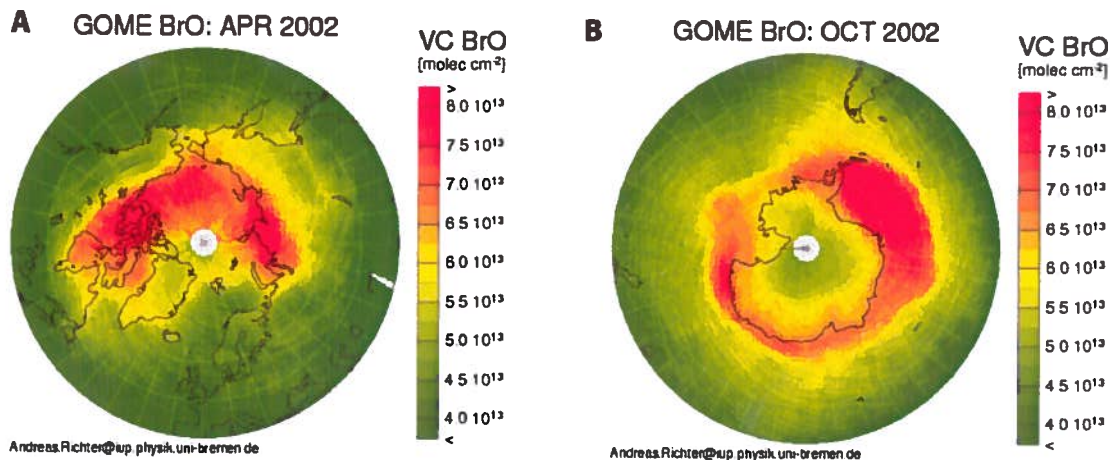


Figure 5.5. Détection du BrO avec le satellite GOME au dessus (A) de l'Arctique et (B) de l'Antarctique. Le plus grand nombre de molécules de BrO par unité de surface est représenté en rouge alors que les valeurs les plus faibles sont en vert (Crédit de l'image : University of Bremen).

vecteur responsable du transfert du Hg anthropique au biota arctique. Contrairement au Hg⁰ qui a une durée de vie atmosphérique de 1-2 ans, le Hg réactif produit durant les ELMA est hydrophile et se dépose rapidement dans l'environnement. Les ELMA représentent donc une voie de contamination potentielle pour ces écosystèmes arctiques.

5.4.2.1 Impact des ELMA sur le Hg dans le manteau neigeux

Le potentiel écotoxicologique des ELMA a été étudiée en utilisant *Vibrio anguillarum* pRB28, un micro-organisme rapporteur *mer-lux*. Transformée avec un plasmide codant pour l'opéron *luxCDABE* sous le contrôle de la région régulatrice de l'opéron *mer*, un signal de bioluminescence est observé lorsque *V. anguillarum* pRB28 est exposée au Hg sous forme biodisponible (Selifonova et al., 1993). Dans le cas d'échantillons de neige prélevés en Alaska, c'est seulement suite aux ELMA que la présence de Hg biodisponible était détectée, ce dernier représentant entre 13 et 55% du Hg total (Scott, 2001; Lindberg et al., 2002). Ce potentiel écotoxicologique a motivé la mise sur pied de programmes de recherche pour établir le lien entre les ELMA et les concentrations de Hg dans la neige ainsi que l'exposition du biota. Puisque le Hg réactif a

une courte durée de vie dans l'atmosphère, un gradient de concentration de Hg total peut être observé à la surface de la neige en périphérie des polynies et ouvertures de la glace où sont déclenchés les ELMA (Bargagli et al., 2005; Douglas et al., 2005). En Alaska, une concentration en Hg total de 820 ng L⁻¹ a été observée dans les cristaux de glace formés en bordure de larges ouvertures de la glace recouvrant la Mer de Beaufort (Douglas et al., 2005). Cette concentration extrême est au moins un ordre de grandeur supérieur aux concentrations de Hg total détectées dans la neige superficielle de sites situés à un vingtaine de kilomètre des ouvertures de la glace (Douglas et al., 2005). Des campagnes d'échantillonnage de la neige dans les régions arctiques et subarctiques ont permis d'établir que les concentrations de Hg total de la neige passait d'un niveau de base de 1-5 ng L⁻¹ à des concentrations aussi importantes que 60-182 ng L⁻¹ suite aux ELMA (Poissant, 2001; Lindberg et al., 2002; Steffen et al., 2002; Kirk, et al., 2006b). Cette distribution du Hg total déposé est hétérogène dû à la courte durée de vie atmosphérique du Hg réactif. Pour un site terrestre subarctique, où le phénomène de nuit polaire n'existe pas, l'enrichissement du manteau neigeux en Hg est dépendant de l'origine des réactions chimiques ayant déclenché les ELMA et le déplacement des masses d'air (Gauchard et al., 2005a,b). D'ailleurs, une publication récente suggère que le type ainsi que l'origine des cristaux de neige sont deux paramètres qui peuvent expliquer les concentrations de Hg détectées dans le manteau neigeux (Douglas et al. 2008). Tel qu'illustré à la figure 5.4, les conditions dans lesquelles sont formés les cristaux de neige peuvent affecter leur contenu en Hg (e.g. phénomène d'adsorption et de ré-émission du Hg).

5.4.2.2 Le destin du Hg déposé dans le manteau neigeux

Il fut estimé que 90 à 450 tonnes métriques de Hg sont déposées annuellement dans l'Arctique, suite aux ELMA (Ariya et al., 2004; Skov et al., 2004). Ce terme de dépôt est généralement bien accepté par la communauté scientifique, mais le débat actuel concerne plutôt le destin du Hg déposé (Outridge et al., 2008). Certains suggèrent que la plupart du Hg déposé est réémis vers l'atmosphère suivant sa réduction photo induite, mais plusieurs lignes d'évidences suggèrent la présence d'un apport net à l'écosystème.

Tel qu'observé dans le cas des milieux aquatiques, le transfert du Hg dans le manteau neigeux est bidirectionnel. Une réduction du Hg²⁺ dépendante de la température et de la radiation solaire est responsable de la réémission d'une portion significative du

Hg déposé dans le manteau neigeux (Lalonde et al., 2002; Steffen et al., 2002) (Figure 5.4). Le Hg émis provient en grande partie de la surface du manteau neigeux, dû à l'atténuation de l'exposition des rayons solaire en fonction de la profondeur (Ferrari et al., 2005; Dommergue et al., 2003b). Cette réduction du Hg pourrait contribuer à amenuiser l'impact des ELMA sur le biota arctique, mais l'accumulation du Hg dans les lichens localisés en périphérie des polynies où sont déclenchés des ELMA de l'Antarctique (Bargagli et al., 2005) montre bien l'importance de cette voie de transfert du Hg pour le biota.

En Alaska, un suivi simultané des flux de Hg, la spéciation du Hg atmosphérique et les concentrations de Hg dans la neige suggéraient que moins de 25% du Hg déposé dans le manteau neigeux suite aux ELMA était réémis vers l'atmosphère (Brooks et al., 2006). La majorité du Hg déposé serait donc retenu dans le manteau neigeux et lessivé lors de la fonte des neiges. Cet apport net en Hg atmosphérique fut d'ailleurs observé à Whapmagoostui-Kuujuarapik, où plus de 90% du Hg total présent dans le manteau neigeux était transféré à l'eau de fonte des neiges (Dommergue et al., 2003a). Une analyse des concentrations de TGM mesurées à Alert entre 1995 et 2002 suggère aussi qu'il y a une augmentation de la rétention du Hg déposé dans les écosystèmes arctiques. Cette dernière se traduit par une diminution de l'intensité du pic de concentration estival par rapport à l'intensité de celui observé au printemps (Steffen et al., 2005).

5.4.2.3. Impact des ELMA sur le MeHg dans le manteau neigeux

Considérant la toxicité du MeHg et sachant que le Hg se dépose dans la neige sous forme biodisponible, des travaux ont été entrepris pour vérifier si un lien pouvait être établi entre la présence de MeHg dans la neige et les ELMA. Dans la neige, les concentrations de MeHg varient généralement entre 20 à 200 pg L⁻¹, représentant au plus 5% du Hg total (Ferrari et al., 2004; Loseto et al., 2004a; Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005; St. Louis et al., 2007). Actuellement, la présence de MeHg dans la neige est attribuée à un dépôt atmosphérique du MeHg présent dans les aérosols marins. Deux lignes d'évidences supportent actuellement cette hypothèse : la corrélation entre les concentrations de MeHg et de chlorures (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005) et les émissions de DiMeHg dans l'Arctique canadien (St. Louis et al., 2007). Les algues et les micro-organismes de la colonne d'eau de zones productives de l'océan Arctique

produiraient du DiMeHg volatil qui serait oxydé en MeHg dans l'atmosphère (Figure 5.4). Le MeHg ainsi formé se déposerait ensuite dans le manteau neigeux. Contrairement au Hg réactif, aucune étude ne fait état du destin du MeHg déposé et il est généralement assumé que son apport est unidirectionnel.

5.4.3. La microbiogéochimie du mercure dans la glace et dans le manteau neigeux

La microbiogéochimie du Hg dans l'Arctique est encore peu documentée. Tel que décrit plus haut, certains micro-organismes ont la capacité de faire la réduction du Hg réactif en Hg⁰ volatil et la déméthylation du MeHg pour détoxifier leur environnement, tandis que d'autres produisent du MeHg. Contrairement au cas des écosystèmes tempérés, l'importance de ces réactions est toujours inconnue pour les écosystèmes arctiques (Barkay and Poulain, 2007). Suite aux ELMA, le transfert du Hg biodisponible dans le manteau neigeux, lacs et océans résulte en la formation de zones enrichies en Hg. Il fut d'ailleurs récemment proposé que ces enrichissements en Hg expliquent l'expression du gène *merA* dans les biofilms benthiques et épiphytiques (Poulain et al., 2007a) (Figure 5.4).

Des études de la microbiologie de la neige et des glaces ont révélé l'importante diversité des micro-organismes tolérants les conditions extrêmes des régions polaires. Des algues, des cyanobactéries, des α -, β -, γ -Proteobactéries et même des archaea ont été détectées dans la glace et la neige (Vincent et al., 2000; Groudieva et al., 2004). Dans la glace, des réseaux microscopiques de soluté constituent l'habitat des micro-organismes qui se retrouvent pour la plupart adhérents aux particules organiques et inorganiques. L'analyse de la diversité ainsi que l'activité de la flore microbienne de la neige et des glaces des régions de l'Arctique révélaient l'importance des bactéries faisant partie de la division des *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* (Junge et al., 2002, 2004; Amato et al., 2007). Ces micro-organismes sont reconnus pour leur capacité à dégrader les polymères, tels la cellulose et la chitine (Kirchmann, 2002) et peuvent tolérer les températures extrêmes en synthétisant des exopolysaccharides. Jusqu'à présent, rien n'indique que ces micro-organismes ont un rôle à jouer dans la microbiogéochimie du Hg.

5.5 La réactivité du manteau neigeux subarctique dans une perspective de l'évolution du climat

Même si les principales réactions impliquées dans le cycle biogéochimique du Hg ont été identifiées, le vecteur responsable du transfert du Hg d'origine anthropique au biota des régions polaires demeure toujours inconnu. Les ELMA pourraient être impliqués dans ce transfert, mais plus d'investigations seront nécessaires pour établir un bilan complet du Hg dans l'Arctique et comprendre le destin du Hg déposé dans la neige. L'étude de la réactivité du manteau neigeux à l'égard du Hg est importante, puisqu'il s'agit d'une source importante de MeHg lors de sa fonte printanière. La présence de MeHg est actuellement attribuée à un dépôt d'aérosols marins et sa stabilité dans le manteau neigeux est non documentée. Cette partie du projet de recherche vise à vérifier si le MeHg déposé dans le manteau neigeux d'un écosystème subarctique (Whapmagoostui-Kuujuarapik, Québec) provient des aérosols marins et à déterminer sa stabilité. Les principales questions abordées sont d'ailleurs présentées dans le contexte du cycle biogéochimique du Hg à la Figure 5.4 (réactions identifiées par le symbole ?).

Considérant que les ELMA sont associés à un dépôt atmosphérique de Hg biodisponible, tout en tenant compte de la présence de micro-organismes et de la réactivité du manteau neigeux, plusieurs hypothèses peuvent être avancées concernant la variation spatio-temporelle des concentrations de MeHg dans la neige d'un écosystème subarctique. Dans le cas d'un apport par les aérosols marins, les concentrations de MeHg devraient être corrélées à celles des ions (e.g. chlorures) qui pourraient servir d'indicateur des concentrations de MeHg. Tel qu'observé dans le milieu aquatique, le MeHg pourrait être dégradé suite à des réactions photochimiques, ce qui occasionnerait une diminution de ses concentrations dans les heures ou les jours suivant son dépôt atmosphérique.

En ce qui concerne la fonte des neiges printanière, l'augmentation de la concentration des particules organiques et inorganiques ainsi que de la biomasse microbienne pourrait être accompagnée d'une hausse des concentrations de MeHg. Tout comme les micro-organismes présents dans la neige et la glace, le Hg se retrouve surtout sous forme particulaire et cette co-localisation pourrait entraîner des réactions de méthylation du Hg encore non documentées. Les facteurs influençant les concentrations de MeHg détectées dans la neige seraient donc la présence de particules, de micro-organismes et la température.

Les travaux pourront mettre en évidence l'importance des aérosols marins en tant que source de MeHg pour le manteau neigeux d'un écosystème subarctique. Ultiment, les données obtenues permettront donc de déterminer l'importance réelle du MeHg présent dans le manteau neigeux sur la contamination du biota de l'Arctique par le Hg. Les changements globaux ayant lieu actuellement dans les écosystèmes polaires exerceront une influence significative sur les processus impliqués dans la dynamique du Hg. Les résultats obtenus seront utilisés pour établir des scénarios à envisager concernant l'impact de ces changements sur la contamination du biota de l'Arctique. Ces scénarios seront décrits dans le chapitre de la discussion.

6 PRÉSENTATION DE L'ARTICLE 4

6.1 Mise en contexte de l'article 4

Depuis la découverte des ELMA en 1995, plusieurs chercheurs se sont intéressés à étudier le potentiel écotoxicologique du Hg transféré de l'atmosphère au manteau neigeux. Suite à son dépôt atmosphérique, le Hg peut subir des réactions de réduction photo induites, générant du Hg⁰ volatil qui est ensuite réémis vers l'atmosphère. Une quantité importante de Hg demeure néanmoins dans le manteau neigeux, représentant un apport net à l'écosystème (Brooks et al., 2006). Même si l'eau de fonte des neiges est une source majeure de MeHg pour les écosystèmes arctiques, l'origine du MeHg détecté est toujours inconnue (Loseto et al., 2004a). Tel que mentionné dans la revue de littérature, des évidences indirectes suggèrent un apport de MeHg via les aérosols marins (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005), mais le potentiel de production de MeHg dans le manteau neigeux n'a toujours pas été déterminé.

L'article 4 présente les travaux effectués afin d'identifier les sources potentielles ainsi que la stabilité du MeHg détecté dans la neige d'un écosystème subarctique (Whapmagoostui-Kuujuarapik). L'article a été accepté pour publication dans le *Journal of Geophysical Research* le 27 novembre 2006.

6.2 Contribution de l'étudiant à l'article 4

Les travaux présentés dans cet article ont été réalisés par l'étudiant sous la supervision de L. Poissant (Ph.D.) qui a établi le plan d'échantillonnage et de R. Villemur (Ph.D.). Les analyses de Hg total ont été faites au laboratoire de L. Poissant (Ph.D.), alors que l'analyse des Cl⁻ et SO₄²⁻, la quantification des solides totaux et des solides totaux volatils ainsi que les travaux de microbiologie ont été effectués dans le laboratoire de R. Villemur (Ph.D.). Les analyses de MeHg ont été accomplies par E. Yumvihoze (Ph.D.) au laboratoire de D. Lean (Ph.D.). L'article a été écrit par l'étudiant avec L. Poissant (Ph.D.) et R. Villemur (Ph.D.).

6.3 Article 4: The Fate of inorganic Mercury and Methyl Mercury within the snow cover in the low arctic tundra on the shore of Hudson Bay (Québec, Canada)

Philippe Constant^{1,2}, Laurier Poissant^{1*}, Richard Villemur², Emmanuel Yumvihoze³ and David Lean³

¹Direction des sciences et de la technologie, Environnement Canada, 105 rue McGill, Montréal, Québec, H2Y 2E7

²INRS-Institut Armand-Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval, Québec, H7V 1B7

³Université d'Ottawa, 150, Louis Pasteur, Ottawa, Ontario, K1N 6N5

* Corresponding Author

E-mail: Laurier.Poissant@EC.GC.CA

Tel.: (514) 283-1140

Fax: (514) 283-8869

(Les droits d'auteurs de cet article sont à Sa Majesté la Reine du Canada)

Référence : Constant, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2007. The Fate of inorganic Mercury and Methyl Mercury within the snow cover in the low arctic tundra on the shore of Hudson Bay (Québec, Canada). Journal of Geophysical Research, vol. 112, D08309, doi:10.1029/2006JD007961.

6.4 Résumé

Malgré la distance qui sépare les foyers industriels du biota des écosystèmes polaires, ce dernier est exposé au Hg d'origine anthropique. Des problèmes de santé liés à cette exposition du biota au Hg ont d'ailleurs été observés chez les autochtones en raison de leur mode de vie traditionnel. Effectivement, le poisson et les mammifères marins des zones polaires, dont les tissus contiennent des concentrations en MeHg qui dépassent souvent les limites recommandées par Santé Canada, représentent une part importante de leur alimentation. Les dépôts atmosphériques constituent le plus important apport en Hg des écosystèmes polaires. Dans l'atmosphère, le Hg⁰ représente plus de 98% du Hg total. Étant donné que le Hg⁰ a une durée de vie qui varie entre 6 et 24 mois, la circulation des masses d'air transporte le Hg émis des sources naturelles et anthropiques sur de longues distances. À titre d'exemple, des systèmes de circulation de masses d'air complexes sont responsables du transport du Hg originant de l'Amérique du Nord et de l'Eurasie vers l'Arctique. Ce sont ensuite les dépôts secs ou humides du Hg qui transfèrent le Hg de l'atmosphère aux écosystèmes aquatiques et terrestres. La découverte des ELMA dans les régions arctique, subarctique et antarctique a cependant bouleversé ces généralités entourant la persistance du Hg atmosphérique. Durant les ELMA, le Hg atmosphérique présent dans la couche limite planétaire est rapidement oxydé par les HR avant de se déposer dans le manteau neigeux. Puisqu'une proportion variable du Hg déposé est ensuite réémis vers l'atmosphère, les ELMA représentent un potentiel écotoxicologique réel pour le biota des zones polaires.

Deux campagnes d'échantillonnage ont été entreprises à Whapmagoostui-Kuujuarapik (Québec), un écosystème subarctique situé au Sud de la toundra. Afin de déterminer les sources potentielles ainsi que la stabilité du MeHg détecté dans la neige de cet écosystème, des échantillons de neige ont été prélevés de manière à étudier sa distribution spatiotemporelle. Les concentrations de TGM et d'O₃ atmosphérique étaient aussi obtenues en temps réel, permettant ainsi de remarquer la présence d'ELMA lors de l'échantillonnage. La première campagne d'échantillonnage fut effectuée en mars 2004 (température moyenne de $-14 \pm 6,7^{\circ}\text{C}$), au moment où avaient lieu les ELMA. Pendant une période d'une semaine, des échantillons de neige de surface ont été prélevés trois fois par jour (matin, midi et soir) à une station fixe représentative de la toundra arbustive.

Cette stratégie d'échantillonnage a permis d'étudier l'impact des ELMA sur les concentrations de Hg total et de MeHg détectées dans la neige et de vérifier si ces dernières suivaient un cycle diurne. La seconde campagne d'échantillonnage fut entreprise en avril 2005 (température de $-0,60 \pm 7,0^{\circ}\text{C}$), lors de la période de la fonte des neiges. Pendant une période de trois semaines, des échantillons de neige ont été prélevés à trois sites différents représentatifs de la Baie d'Hudson (BH), de la Grande Rivière de la Baleine (RIV) et de la toundra arbustive (CEN). Cette stratégie d'échantillonnage a été sélectionnée pour évaluer si la neige de la toundra arbustive constituait une source plus importante de MeHg que la neige recouvrant la rivière et la Baie d'Hudson. Pour compléter la distribution des concentrations de Hg total et de MeHg de la neige, d'autres paramètres, tels que la concentration en ions chlorures (Cl^-) et sulfates (SO_4^{2-}), la concentration de solides totaux et de solides totaux volatils, ainsi que les dénombrements de bactéries hétérotrophe, ont aussi été analysés.

Deux ELMA ont été observés au cours de la campagne d'échantillonnage de mars 2004. Lors de ces épisodes, les concentrations de TGM étaient significativement corrélées à celles de l' O_3 . Cette corrélation s'explique par la réactivité des halogènes envers le Hg et l' O_3 . L'origine des masses d'air affectant le site d'échantillonnage était un paramètre important, déterminant si un ELMA occasionnait ou non un enrichissement de la neige en Hg. Le Hg réactif ayant une durée de vie atmosphérique de moins de 10 heures, seuls les ELMA déclenchés à proximité de la côte Est de la Baie d'Hudson avaient des effets perceptibles sur les concentrations de Hg total détectées dans la neige de Whapmagoostui-Kuujuarapik. Conformément à cette observation, la concentration du Hg total de la neige était inversement proportionnelle à la distance séparant le site d'échantillonnage de la Baie d'Hudson. La corrélation entre les concentrations de MeHg, les SO_4^{2-} et les Cl^- suggérait que les aérosols marins étaient une source significative de MeHg pour le manteau neigeux ; une source indépendante des ELMA. Cependant, le MeHg fraîchement déposé était instable dans la neige puisque 15 à 66% du MeHg était déméthylé ou perdu durant la nuit. Les données disponibles ne permettent pas d'identifier les processus responsables de ces pertes nocturnes, mais des réactions chimiques impliquant des molécules réactives, telles que les radicaux NO_3 , seraient plus concevables que la voie biologique.

La seconde campagne d'échantillonnage a permis d'observer que les aérosols marins ne représentaient pas une source significative de MeHg au moment de la fonte des neiges. Contrairement au Hg total, dont la concentration était relativement constante aux trois sites investigués (BH, RIV et CEN), les concentrations de MeHg étaient plus élevées au site représentatif de la toundra arbustive (CEN). Des concentrations de MeHg supérieures à 200 pg L^{-1} étaient observées lorsque le dénombrement des bactéries hétérotrophes de la neige, les solides totaux et les solides totaux volatils étaient supérieurs à $5.0 \times 10^5 \text{ UFC L}^{-1}$, 25 mg L^{-1} et 90 mg L^{-1} , respectivement. Même si les concentrations de THg étaient demeurées autour de $8\text{-}9 \text{ ng L}^{-1}$ pendant la fonte des neiges, la proportion de MeHg avait augmenté de 2,7 à 7,6%. Cette dernière observation est importante puisque la hausse de la proportion de MeHg est indicatrice de réactions de méthylation du Hg dans les lacs et sédiments. Les résultats obtenus mettent donc en évidence le potentiel d'une activité de méthylation du Hg dans le manteau neigeux de la toundra subarctique. D'autres travaux seront cependant nécessaires pour caractériser ces réactions et déterminer l'apport en MeHg via les particules organiques et inorganiques présentes dans le manteau neigeux.

6.5 Abstract

Snow samples were collected in the seasonal snow cover of the low arctic tundra (Whapmagoostui-Kuujuarapik, Québec) during episodic atmospheric mercury depletion events (AMDEs) and in the snow melt period, long after AMDEs had occurred. Total and methyl mercury analyzes were done in order to investigate the critical factors influencing the fate of mercury once deposited in the snow pack. Following AMDEs, snow total mercury (THg) concentrations increased and were inversely proportional to the distance from Hudson Bay. The correlations between MeHg, sulfate (SO_4^{2-}) and chlorine (Cl) snow concentrations implicated marine aerosols as a significant source of MeHg, independent of AMDEs. However, the newly deposited MeHg was unstable in the snow cover as 15 to 56% of the MeHg was demethylated or otherwise “lost” during the nighttime period. In contrast, during the snow melt period, marine aerosols were not a significant source of MeHg. MeHg snow concentrations higher than 200 pg L^{-1} were observed when snow’s heterotrophic plate counts (HPC), total suspended volatile solids (TVSS) and total suspended solids (TSS) were higher than $5.0 \times 10^5 \text{ CFU L}^{-1}$, 25 mg L^{-1} and 90 mg L^{-1} , respectively. During the snow melt, although the THg snow concentrations remained at $8\text{-}9 \text{ ng L}^{-1}$, the proportion of MeHg increased from 2.7 to 7.6%. This is the first report suggestive of the presence of mercury methylation activities within the snow cover of the low arctic tundra.

6.6 Introduction

Midlatitude anthropogenic activities have significantly influenced the spatial and temporal trends of organic and inorganic contaminants in the Canadian Arctic biota (Macdonald et al., 2000; Braune et al., 2005). This was shown to be attributable to air mass circulation, oceanic currents (Macdonald et al., 2000) and migratory species (Krümmel et al., 2003; Blais et al., 2005). Among the inorganic contaminants delivered to northern ecosystems, mercury may represent an exposure risk for the native populations of these regions due to their traditional lifestyle that relies on fishes and marine species for subsistence (Muckle et al., 2001). With a global atmospheric lifetime of 0.5 to 1 year, gaseous elemental mercury (Hg^0 : 98% of atmospheric mercury speciation) can be transported over long distances (Poissant, 1999), supporting the concept of mercury as a

global pollutant. Once in the gas phase, Hg^0 may be oxidized to reactive mercury species (reactive gaseous mercury; RGM, Hg^{1+} , Hg^{2+}) that are rapidly removed from the atmosphere by wet and dry deposition. In aquatic environments, further biotic and abiotic methylation processes are known to transform Hg^{2+} into MeHg (Weber, 1993; Barkay and Wagner-Döbler, 2005), a potent neurotoxin that is bioaccumulated in the food web. Concern about mercury pollution arises therefore because of its mobility and health effects caused by its methylated form.

Atmospheric mercury depletion events (AMDEs) were observed for the first time in the Canadian Arctic during the spring of 1995 (Schroeder et al., 1998). Throughout AMDEs, atmospheric Hg^0 levels drop from 1.6-1.8 ng m^{-3} to concentrations near zero, whereas RGM species concentrations increase from 0.002 ng m^{-3} to levels as high as 0.9 ng m^{-3} (Lindberg et al., 2001). Reaction chamber experiments (Raofie and Ariya, 2004), theoretical studies (Calvert and Lindberg, 2004; Goodsite et al., 2004) and field observations (Poissant and Hönninger, 2004; Carpenter et al., 2005) suggested that atmospheric oxidation of Hg^0 to RGM during AMDEs is caused by reactive bromine monoxide (BrO), bromine (Br) and iodine-containing compounds. These reactive halogens that originate from the photolysis of inorganic halogen species are released to the troposphere by the autocatalytic oxidation of sea salt halides and the degradation of organohalogens. Since reactive halogen atoms also react with ozone (O_3), AMDEs are in phase with the well-known tropospheric ozone depletion events (ODEs).

RGM species generated during AMDEs have a short atmospheric lifetime (Lindberg and Stratton, 1998; Poissant et al., 2004) and are rapidly deposited into the snow as a bioavailable form (Scott, 2001; Lindberg et al., 2002). Some of this deposited Hg is reemitted into the atmosphere even during cold weather by photoreduction of reactive mercury to insoluble Hg^0 (Lalonde et al., 2002; Poissant et al., 2002), while a significant proportion could be released with snowmelt water (Lindberg et al., 2002; Dommergue et al., 2003a). Model simulations suggested that between 89 and 450 Tg of Hg are deposited annually in the Arctic ecosystems, as a consequence of AMDEs (Ariya et al., 2004; Skov et al., 2004).

Studies on mercury speciation within the snow pack have already been conducted in the French Alps (Ferrari et al., 2002), at Station Nord in Greenland (Ferrari et al.,

2004), at Whapmagoostui-Kuujuarapik (Dommergue et al., 2003a, 2003b) and in the Canadian Arctic (Loseto et al., 2004a; Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005). It appeared that more than 99 % of the THg was in the snow rather than in the interstitial air of the snow cover (Ferrari et al., 2004) and that fast oxidation processes occurred within the snow pack (Ferrari et al., 2004; Dommergue et al., 2003b; Lahoutifard et al., 2006). In the snow cover, MeHg may represent as high as 5% of the total mercury (THg) (Ferrari et al., 2002; Lahoutifard et al., 2005). It was also estimated that snowmelt water was the most significant source of MeHg for the Arctic ecosystems located on Cornwallis Island (Loseto et al., 2004a).

Currently, the presence of MeHg within the snow cover is attributed to atmospheric deposition (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005). Although microbial activities have been detected within the snow and ice covers in the Antarctic (Priscu et al., 1998; Carpenter et al., 2000), in the ice of the Arctic (Junge et al., 2004) and in the ice and the snow of Pyrenean and Alpine lakes (Felip et al., 1995), there are no direct evidences for microbial Hg methylation activities in these environments. This gap in the current knowledge needs to be considered to apportion the real impact of AMDEs for the northern ecosystems. In this study, the processes responsible for the fate of THg and MeHg within the snow pack of the low arctic tundra (Whapmagoostui-Kuujuarapik) were investigated under two conditions: (I) at sub-zero temperatures, when AMDEs occurred along with intensified solar radiation and (II) long after AMDEs had occurred during the snow melt period. Some microbiological works were also included in order to explore the potential of biotic reactions involved in the biogeochemical cycle of Hg within the seasonal snow cover of the sub-arctic ecosystems.

6.7 Experimental section

6.7.1 Site description and sample collection

The investigation was performed at Whapmagoostui-Kuujuarapik (55°17'N, 77°46'W), a village located on the east coast of Hudson Bay (Québec, Canada), at the mouth of the Great Whale River (Figure 6.1). This region represents the boundary between the Arctic tundra and the taiga. At this latitude, snow cover is seasonal. A research station, so-called the Centre d'Études Nordiques (CEN) run by Université Laval

is available year-round and provides laboratory facilities for scientists. Meteorological parameters, such as air temperature, relative humidity, wind speed and wind direction are provided. Total gaseous mercury (TGM) and ozone (O₃) air concentrations have been monitored at CEN since 1999 (Poissant and Pilote, 2003). Two intensive field campaigns were conducted in order to link atmospheric processes with the fate of THg and MeHg within the snow pack.

In March 2004, surface snow samples (0-10 cm) were collected three times a day (8:30, 13:00 and 19:00) near the CEN to investigate the changes in concentration of THg, MeHg, Cl⁻, and SO₄²⁻ on a diurnal cycle over a period of eight days. Air temperature was below the freezing point ($-14 \pm 6.7^{\circ}\text{C}$) the entire time and two AMDEs were observed. Snow samples were also collected at three satellite stations (S1, S2, S3; see Figure 6.1) in order to investigate THg and MeHg spatial distributions.

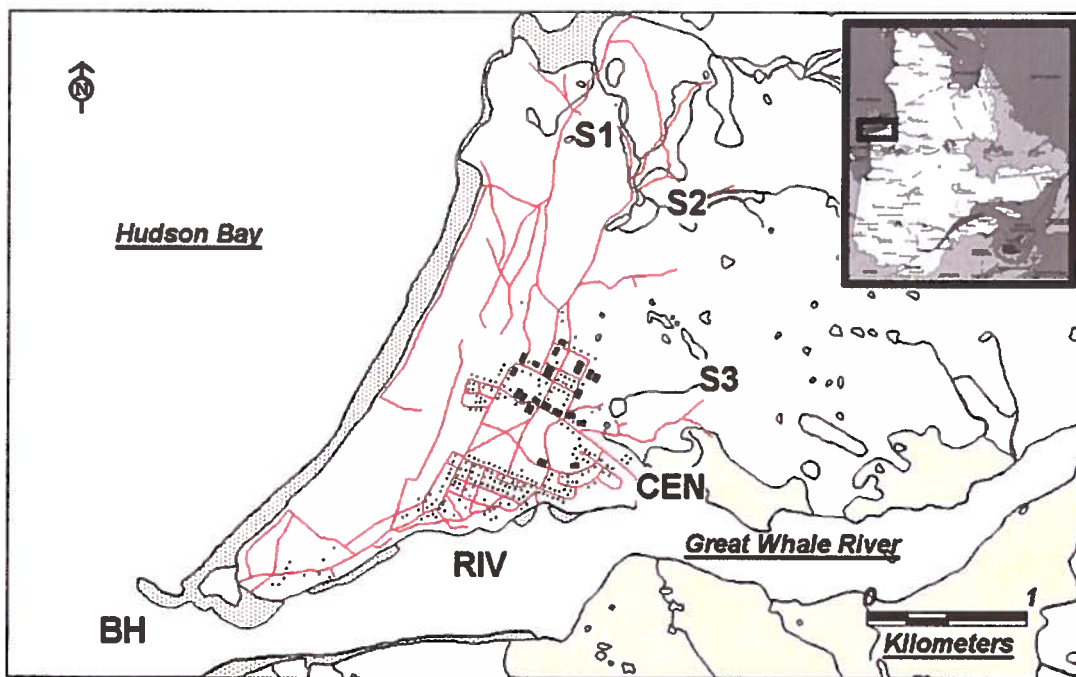


Figure 6.1. Map showing the location of Whapmagoostui-Kuujuarapik (Québec, Canada) as well as the different sampling stations.

In April 2005, surface (0-10 cm) and subsurface (10-20 cm) snow samples were collected at three different stations located near the CEN, at the Great Whale River (RIV) and at Hudson Bay (BH), over a period of three weeks (Figure 6.1). Air temperature was below the freezing point at the beginning of the field campaign and increased until the end (average: $-0.60 \pm 7.0^{\circ}\text{C}$). Analyses for levels of THg, MeHg, SO_4^{2-} , Cl^- , dry weight, ash free dry weight and heterotrophic microorganisms were carried out for the snow samples at each station.

Acid-cleaned materials were used and full clean room clothing and polyethylene gloves were worn for all sample collection. MeHg and THg snow samples were acidified and kept in Teflon[®] bottles packed inside two sealed polyethylene bags whereas snow samples dedicated for SO_4^{2-} and Cl^- analyses were conserved in 250 ml polyethylene bottles. All samples were kept frozen in the dark until melted before analysis.

For microbial enumeration, snow samples were collected in sterile 4 L polyethylene containers (Nalgen[®]) and melted before being aseptically filtered through 0.20 μm , 47 mm Millipore[®] membrane filters. The membrane was then transferred into a 15 mL sterile Falcon tube and 10 mL of sterile saline water (0.85% NaCl) were added. The biomass was suspended by mixing thoroughly with a vortex.

6.7.2 Snow total mercury analyses

Samples for THg analyses were collected in duplicate (500 mL Teflon bottles) and measured in a class 100 clean room at Environment Canada (Montréal, Canada). Mercury was dissociated from organic complexes with BrCl followed by a reduction of the mono- and divalent mercury forms to Hg^0 with SnCl_2 . Volatilized Hg^0 was then concentrated on a gold trap that was finally heated to release mercury vapors detected with an atomic fluorescence spectrophotometer (Tekran Model 2500) (Quémerais and Cossa, 1997) following the modified US EPA Method 2620. A detection limit of 10 pg L^{-1} (3 times the standard deviation) was achieved.

6.7.3 Snow methyl mercury analyses

MeHg in surface snow was quantified by using gas chromatography-atomic fluorescence spectrometry following solid-phase extraction on sulfhydryl-cotton columns and an acidic-potassium bromide elution (Lee and Mowrer, 1989; Cai et al., 1996).

Calibration standards, blanks and MeHg spikes were analyzed with each batch of samples. The MeHg spikes were analyzed to determine the efficiency of extraction and verify the absence of artifact formation of MeHg (Celo et al., 2004) and provided recovery for matrix matched controls. Recoveries were similar to that found by other researchers and averaged 82% with blank samples containing no detectable MeHg. The absolute detection limit for MeHg was found to be less than 20 pg (three times the blank's standard deviation). When no MeHg was detected, a concentration of 20 pg L⁻¹ was attributed, for statistical purpose. The samples dedicated to MeHg analyses were collected in duplicate (1 L Teflon bottles) or quadruplicate (500 mL Teflon bottles).

6.7.4 Snow sulfates and chlorines analyses

SO₄²⁻ and Cl⁻ anions were detected with a HPLC (Waters[®]) equipped with a Waters IC-Pak A column[®]. The HPLC was calibrated using a diluted Fisher certified standard solution (SPEX CertiPrep; 150 mg L⁻¹ SO₄²⁻, 50 mg L⁻¹ Cl) and samples were filtered through a 0.45 µm membrane before analyses.

6.7.5 Bacteria enumeration

Although only a small proportion of the total microbial population is detected by using culture techniques, heterotrophic plate counts method (HPC) is nevertheless useful as it provides an operationally defined fraction of the microbial community. HPC were conducted by inoculating 0.1X and 1X R2A Agar (Becton Dickinson and Company) and Bacto[®] Plate Count Agar (PCA, Difco Laboratories) with 100 µl of the diluted biomass retrieved from the snow samples by filtration. The incubations were done at 15°C and the total counts were realized 48 hours following the inoculation. The HPC obtained with these incubation settings were not significantly different than those observed from an incubation of two weeks at 6°C. The results reported in this paper are the average and the standard deviation for the counted colony-forming-unit (CFU) obtained from R2A (0.1X and 1X) and PCA cultivation media.

6.7.6 Total suspended solids and total volatile suspended solids

Snow samples (3 L or less) were filtered through glass fiber filters. Whatman GF/F filters were dried for 1 hour (105°C) and weighted to determine the amount of total

suspended solids (TSS) in mg L^{-1} of snow sample. Dried filters were then heated at 550°C to evaluate the weight loss on ignition corresponding to total volatile suspended solids (TVSS) in mg L^{-1} of snow samples. The TVSS gave an approximation of the amount of organic matter present in the solid fraction of the snow samples.

6.7.5 TGM and O_3 measurements in air

Continuous air TGM measurements were done at the CEN with an automatic Tekran[®] mercury analyzer (Model 2537A). This instrument sampled the air and trapped the mercury vapor into a gold cartridge. Amalgamated mercury was then thermally desorbed and detected by using Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS). Two cartridges were mounted in parallel, allowing continuous TGM measurements by alternate sampling and thermal desorption cycles. The analyzer was operated with 15 min sampling intervals at a flow rate of 1.5 L min^{-1} (Poissant, 1997).

O_3 concentrations were measured photometrically with an automated analyzer (Model 49C, Thermo Environmental Instruments Inc., Massachusetts). The principle of this analyzer is based on O_3 absorption at $\lambda = 254 \text{ nm}$ (UV range) following Beer-Lambert's laws. Air was sampled continuously at a flow rate of 1 L min^{-1} and O_3 concentrations were obtained at 5 minutes intervals with a lower detection limit of 1 ppbv.

6.8 Results and discussion

TGM and O_3 air concentrations are followed continuously at Whapmagoostui-Kuujuarapik since 1999. This location is well known for the occurrence of springtime's AMDEs (Poissant, 2001; Poissant and Pilote, 2003). The experiments reported in this paper were designed to study the fate of THg and MeHg in the Whapmagoostui-Kuujuarapik's snow pack under two specific conditions: (I) in March 2004, through the AMDEs season and (II) in April-May 2005, during the snow melting period.

6.8.1. Hg fate in the snow cover: the incidence of AMDEs

Two AMDEs were recorded during the first field campaign: a weak episode on March 13th (AMDE_A) and a more intense event on March 16th (AMDE_B) (Figure 6.2a). TGM and O_3 air concentrations were closely related ($r^2 = 0.892$; $\alpha < 0.01$; Figure 6.2a), as

the sea-ice autocatalytic release of reactive halogen species contributed to both O₃ and TGM tropospheric loss during the polar spring (Hönninger, 2002; Calvert and Lindberg, 2003).

6.8.1.1. A link between atmospheric and snow processes

Consistent with previous investigations conducted in the Canadian Arctic (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005), MeHg and THg snow concentrations were not significantly correlated ($r^2 = 0.183$, $\alpha > 0.05$). At the beginning of the field campaign, the AMDE_A caused a 3 fold increase of THg snow concentrations that remained around 10-16 ng L⁻¹ until the end of the AMDE_B (Figure 6.2b). Following the AMDE_B, 78% of the THg was lost from the snow surface, over a period of 11.5 h (Figure 6.2b). The loss of THg might be attributable to a photo-induced reduction of Hg(II) to volatile Hg⁰ within the surface snow (Lalonde et al., 2002; Poissant et al., 2002). Since the air and the snow temperatures were below the freezing point, the release of mercury with the liquid water of the snow pack (Lindberg et al., 2002; Dommergue et al., 2003a) was not determined.

Although the AMDE_B was more intense than the AMDE_A (Figure 6.2a), it resulted in no significant THg enrichment for the snow sampled at the CEN station (Figure 6.2b). In order to discriminate both AMDEs, air masses back-trajectories ending at the sampling site were determined by using the HYSPLIT model (Draxler and Rolph, 2003; Rolph, 2003). During the AMDE_B, air mass parcels arriving at Whapmagoostui-Kuujuarapik originated from the north of Hudson Bay (Figure 6.3a). These air masses had circulated 24 hours over the Hudson Bay before reaching the sampling site (Figure 6.3a). The northern region of Hudson Bay is known as an important source of inorganic bromides, released from newly formed sea-ice (Hönninger, 2002; Kaleschke et al., 2004). Therefore, it is likely that the AMDE_B was caused by an influx of air masses depleted in Hg rather than from local chemical reactions. Since the Hg⁰ atmospheric lifetime is less than 10 h over the course of AMDEs (Skov et al., 2004), the RGM species formed during the AMDE_B must have been deposited onto Hudson Bay prior to the air mass reaching the sampling site. In the case of the AMDE_A, associated air masses had circulated over Hudson Bay for less than 6 hours prior reaching the sampling site (Figure 6.3b). Local chemical reactions originating from an open water lead formed on the

Hudson Bay, at a few kilometers from the sampling site, may have produced the AMDE_A that triggered the enrichment of THg observed within the snow pack (Figure 6.2b). The origin of air mass for snow THg concentrations during AMDEs has also been assessed during international field campaigns organized at Svalbard (Gauchard et al., 2005a) and Whapmagoostui-Kuujuarapik (Gauchard et al., 2005b).

Although THg snow concentrations decreased following the photoreduction reactions, MeHg enrichments occurred on March 17th and 18th (Figure 6.4). Based on a survey conducted earlier by Mason and coworkers (Mason et al., 1998), marine dimethylmercury (DiMeHg) biogenic emissions were postulated to be the predominant MeHg source for the snow pack on Ellesmere Island (St. Louis et al., 2005). Due to its high volatilization and its reactions with $\cdot\text{OH}$, $\text{Cl}\cdot$, O_3 , $\text{NO}_3\cdot$, $\text{O}(\text{}^3\text{P})$ and $\text{F}\cdot$, DiMeHg has a short atmospheric lifetime (Lin and Pehkonen, 1999). For instance, reactions of DiMeHg with $\text{Cl}\cdot$ generate atmospheric MeHg-Cl as end products, that could be long-range transported and deposited into the snow pack. Accordingly, DiMeHg concentrations in the order of 100-200 pg L^{-1} were observed in water samples collected at a depth of 100 m in the High Arctic and the Hudson Bay (Kirk et al., 2006a). Although the emissions of MeHg from these northern water bodies are not yet quantified, the occurrence of mercury methylation processes in the water column and/or the sediments was observed (Andersson et al., 2006; Kirk et al., 2006a).

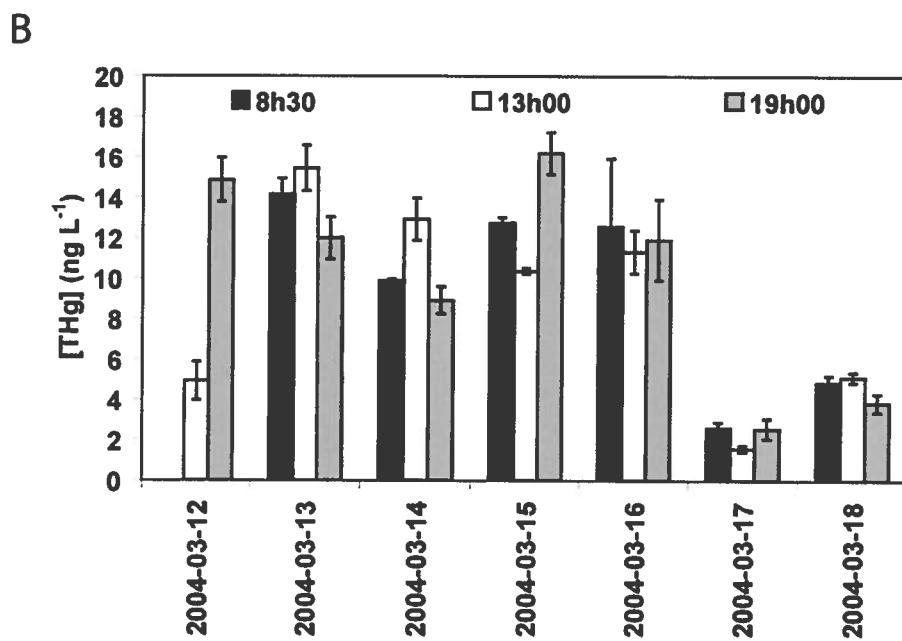
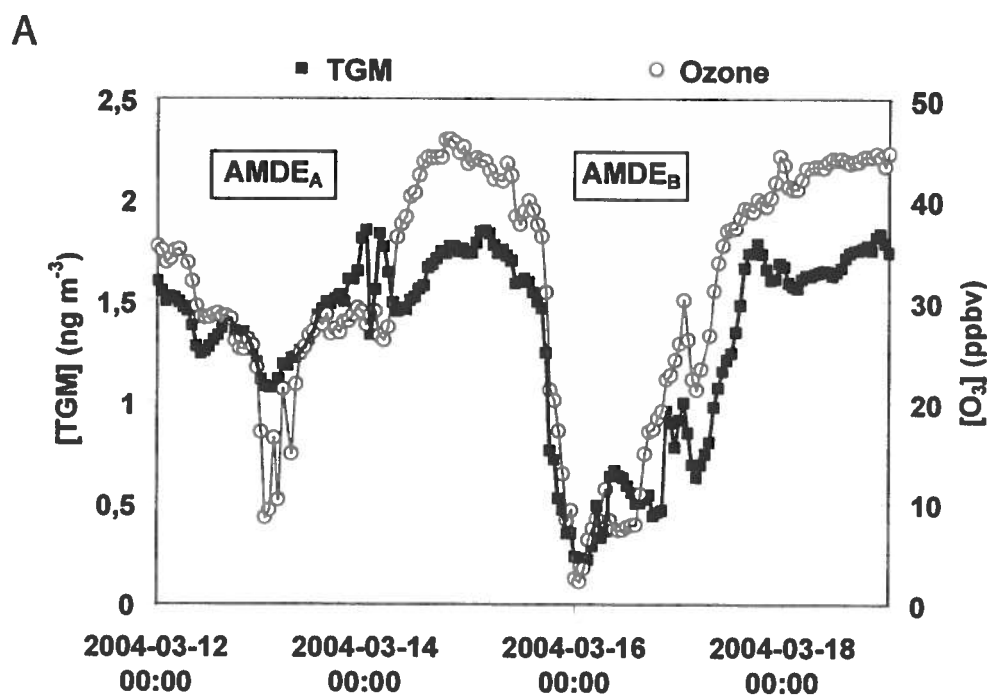


Figure 6.2. Time series for (A) TGM and O₃ air concentrations and (B) THg snow concentrations measured from 2004 March 12th to 19th at the CEN.

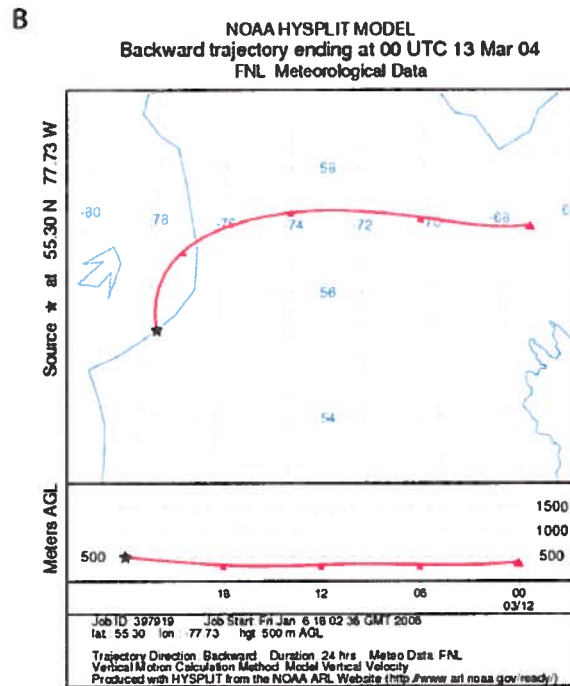
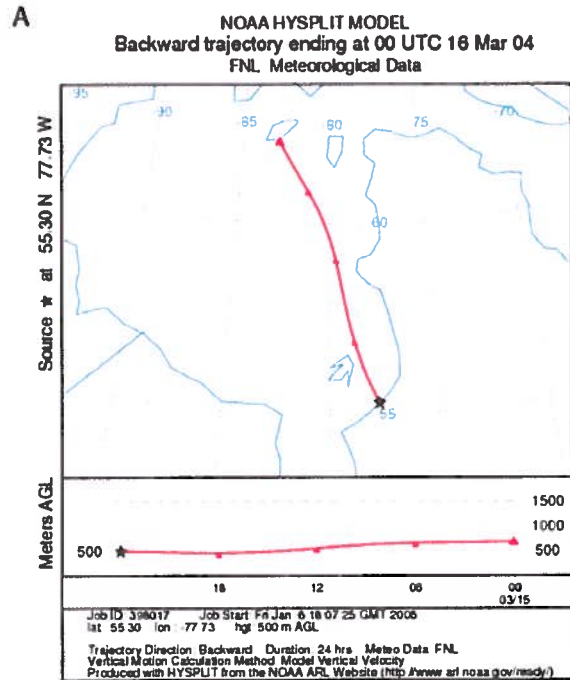


Figure 6.3. NOAA 24 hours backward trajectories ending at the CEN (A) at 0h00 UTC on March 16th : $AMDE_B$ and (B) at 0h00 UTC on March 13th : $AMDE_A$. Each segment between tick marks of the trajectory lines indicates a 6 hours interval. The bottom of the map shows the height of air mass parcels at each corresponding tick marks.

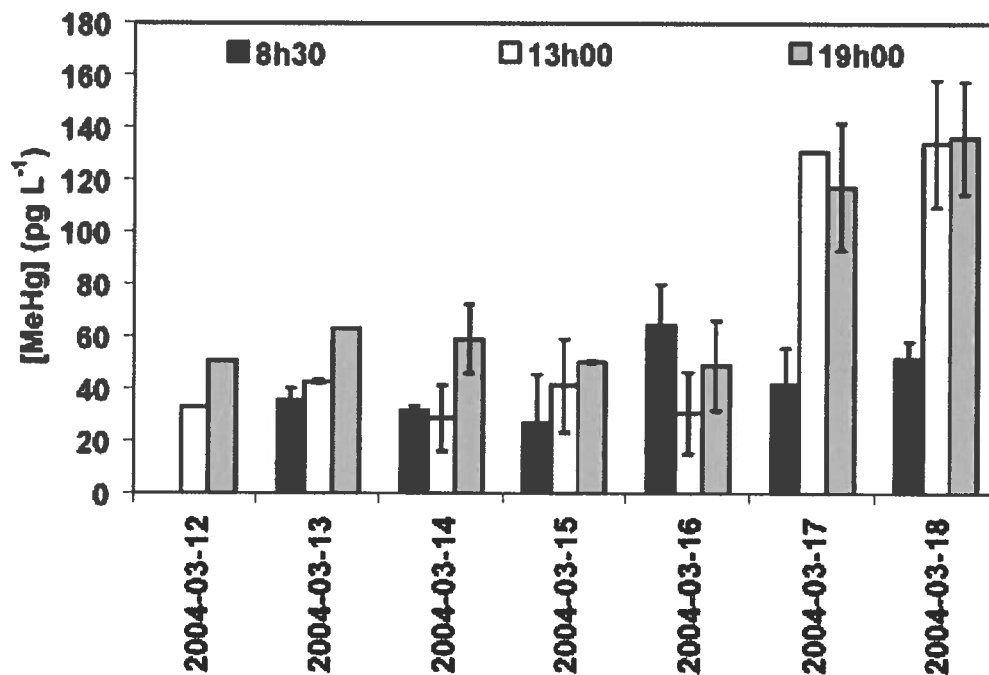


Figure 6.4. Time series for MeHg snow concentrations measured from 2004 March 12th to 19th at the CEN.

Since MeHg snow concentrations were significantly correlated to Cl^- ($r^2 = 0.518$; $\alpha < 0.05$) and SO_4^{2-} ($r^2 = 0.880$; $\alpha < 0.01$) snow concentrations, marine aerosols could represent a source of MeHg for the snow pack. Table 6.1 presents the concentrations of Cl^- , SO_4^{2-} , MeHg and THg in snow collected on March 17th and 18th, when the MeHg enrichments occurred (Figure 6.4). The increase of Cl^- and SO_4^{2-} snow concentrations observed on March 17th was a good indicator of marine aerosols deposition (Douglas and Sturm, 2004). In order to assess the biogenic or anthropogenic origin of the MeHg detected, the marine and non marine components of SO_4^{2-} were calculated in proportion to Cl^- according to their known ratio in seawater ($[\text{SO}_4^{2-}]/[\text{Cl}^-] = 0.140$, where concentrations are expressed in mg L^{-1}) (Riley and Skirrow, 1975). This calculation indicated that the presence of non sea salt SO_4^{2-} was negligible in the snow cover of the sampling site. Therefore, as suggested in previous investigations realized in the Canadian High Arctic, presence of MeHg in marine aerosols could be attributed to DiMeHg

emissions by-product from open water leads (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005).

Table 6.1. Cl^- , SO_4^{2-} , MeHg and THg snow concentrations for samples collected on 2004 March 17th and 18th at the CEN station. Standard deviations are given in the parentheses.

Sampling time	Cl^- (mg L^{-1})	SO_4^{2-} (mg L^{-1})	MeHg (pg L^{-1})	THg (ng L^{-1})
March 17 th 8h30	0.591 (0.0553)	0.0658 (0.0631)	41.8 (14.8)	2.60 (0.294)
March 17 th 13h00	0.863 (0.131)	0.0802 (0.0589)	131	1.58 (0.154)
March 17 th 19h00	1.70 (0.367)	0.273 (0.0999)	117 (24.4)	2.56 (0.500)
March 18 th 8h30	3.04 (0.249)	0.191 (0.0622)	51.7 (6.45)	4.84 (0.343)
March 18 th 13h00	3.86 (0.0534)	0.352 (0.122)	134 (24.4)	5.11 (0.257)
March 18 th 19h00	4.38 (0.125)	0.496 (0.0897)	136 (21.5)	3.84 (0.458)

6.8.1.2. Diurnal cycle of MeHg

Previous investigations indicated that the snow MeHg levels decreased with time, as a result of unidentified reactions or because of an artifact caused by a spatial heterogeneity of the MeHg snow concentrations (Ferrari et al., 2004; Lahoutifard et al., 2005). On the other hand, St. Louis et al. (2005) hypothesized that the newly deposited halogen-bound MeHg remained unaltered in the snow pack. On March 18th (between 8h30 and 13h00), despite an estimated net deposition of $434 \text{ pg MeHg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (supporting material 1) it appeared that the newly deposited MeHg was unstable within the snow cover (Figure 6.4). Indeed, an unsuspected diurnal cycle for MeHg concentrations occurred within the snow pack. Since the snow samples collected at 13h00 and 19h00 contained higher MeHg concentrations than samples collected at 8h30 (Figure 6.4), a demethylation activity should have occurred during nighttime. However, further observations are needed to determine if this observation is common.

Two pathways can exert nighttime MeHg demethylation activity: microbial activity or abiotic reactions involving reactive chemical species. Biotic MeHg demethylation activity can occur under either a reductive or an oxidative degradation pathway by mercury-resistant bacteria or as co-metabolism, respectively (Barkay and Wagner-Döbler, 2005). In sediments incubated at 20°C, MeHg degradation constant (k_{Deg}) varied from less than 0.2 to 5.8 d⁻¹ for Hg uncontaminated and contaminated sites, respectively (Marvin-Dipasquale et al., 2000). Assuming no Hg methylation activities, the k_{Deg} within the snow pack of Whapmagoostui-Kuujuarapik varied from 0.28 to 1.5 d⁻¹, corresponding to the demethylation of 15 to 56% of the MeHg in the snow cover, during a 13.5 h period (supporting material 2). As the snow MeHg concentrations were below 200 pg L⁻¹ and that the snow pack temperature was $-12.1 \pm 1.48^\circ\text{C}$ over the entire field campaign, such a rapid microbial MeHg demethylation activity seems unrealistic.

Alternatively, nitrate radicals (NO_3^\cdot) may have catalyzed the MeHg demethylation activity. Because NO_3^\cdot is rapidly photolyzed, both its daytime concentration and chemistry are of relatively minor importance. However, the concentration of NO_3^\cdot can build up at night, following an oxidation of NO_2 by O_3 (Allan et al., 1999). Previous investigations have shown that atmospheric DiMeHg has a very short lifetime in the presence of NO_3^\cdot , generating inorganic divalent Hg, HCHO, methanol (CH_3OH) and methyl peroxyxynitrate ($\text{CH}_3\text{O}_2\text{NO}_2$) as end-products (Sommar et al., 1996; Sommar et al., 1997). Therefore, the reaction 1 represents a possible pathway involved in the nighttime MeHg demethylations observed within the snow cover. In the snow of the sampling site, the X of reaction 1 is probably Cl^- , as chlorines represent an important sink for the DiMeHg emitted to the atmosphere in coastal locations (Sommar et al., 1996).



In the night of March 16th, when the AMDE_B occurred, no nighttime MeHg demethylation activity was observed (Figure 6.4). Evidently, NO_3^\cdot production was negligible during that episode, since the air masses arriving at the sampling site were O_3 depleted.

6.8.1.3 MeHg and THg spatial distribution

During the afternoon of March 16th, at the end of the AMDE_B (Figure 6.2a) and

through the first MeHg atmospheric deposition (Figure 6.4), snow samples were collected at 3 different locations (S1, S2 and S3; see Figure 6.1) to investigate MeHg and THg spatial distributions. THg snow concentrations were inversely correlated with the distance from the Hudson Bay coast, while the MeHg concentrations were similar for the 3 sites (Figure 6.5). This trend of spatial distribution for THg snow concentrations was also noticed during two studies conducted in Alaska (Garbarino et al., 2002; Douglas et al., 2005) but not at Cornwallis Island (Lahoutifard et al., 2005). For instance, THg snow concentrations were nine times higher in snow along an open water lead than within snow collected several kilometers away (Douglas et al., 2005). As an open water lead was observed near the Hudson Bay coast (a few kilometers from the station S1), the THg snow concentrations spatial distribution (Figure 6.5) might have resulted from the advective transport of air masses carrying marine-related reaction products, such as Hg^{2+} . The spatial distribution observed for THg and MeHg in snow surface reflected the difference between Hg^{2+} and MeHg atmospheric lifetimes.

6.8.2. Hg fate in the snow cover: the snow melting period

In April 2005, a second field campaign was conducted in order to investigate the fate of THg and MeHg within the snow pack, during the snow melt period. Surface snow samples were collected at three sites (BH, RIV and CEN; see Figure 6.1) from April 12th to April 20th. These sites were chosen to investigate if the snow cover in the low Arctic tundra (CEN) represented a larger source of MeHg than Great Whale River (RIV) and Hudson Bay (BH). Snow properties that differed for the three sites are the gradual increase of HPC, TVSS and TSS observed from the BH to the CEN station (Table 6.2).

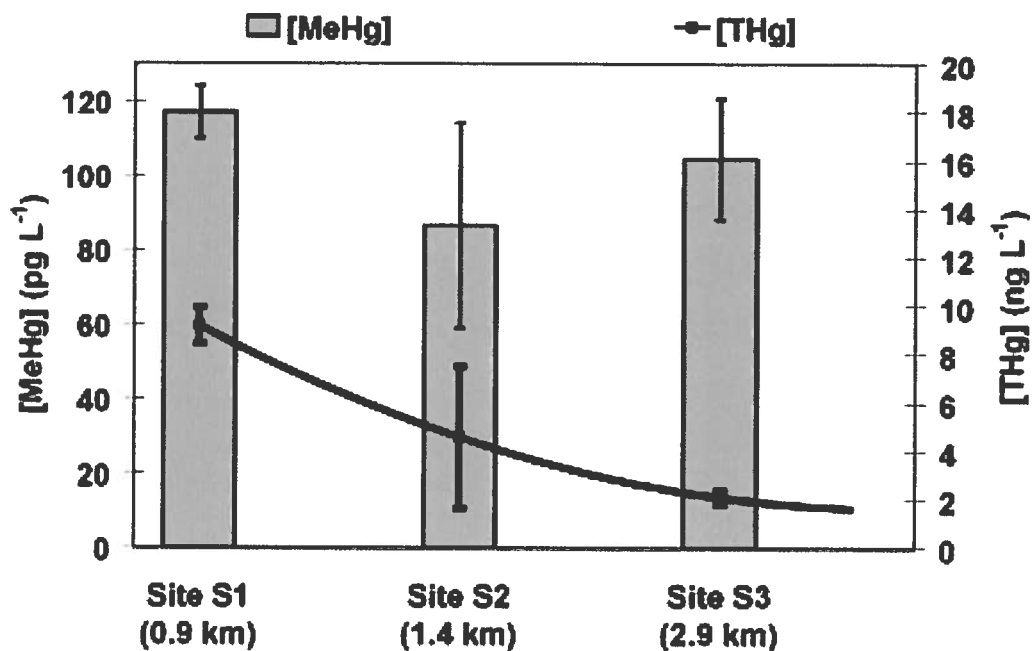


Figure 6.5. MeHg and THg snow concentrations from snow samples collected at three different sites on 2004 March 16th along a North-South transects. In parentheses are given the linear distance of the sampled station from the north shore of Hudson Bay.

Unlike Cl⁻, the MeHg snow concentrations were not inversely correlated with the distance from the Hudson Bay coast and the CEN station was the most enriched in regard of MeHg (Table 6.2). In addition, the MeHg snow concentrations were below the analytical detection limit for 25 and 75% of the snow samples collected at BH and RIV sites, respectively (Table 6.2). Site specific processes rather than atmospheric deposition could then be involved for this MeHg spatial distribution.

Over the period of April 20th to 30th, BH and RIV stations were not further sampled, because of the thawing of the ice cover. However, THg and MeHg snow concentrations continued to increase at the CEN station; with the exception of April 23rd, when a 10 cm snowfall occurred (Figure 6.6). As no AMDEs were observed, dry deposition of natural or anthropogenic particulate matters may explain the increase of THg concentration observed (Figure 6.6). However, unlike the constant MeHg snow concentration increase, THg reached a plateau of 8-9 ng L⁻¹ (Figure 6.6). Accordingly,

($\mu\text{g L}^{-1}$)	(mg L^{-1})	(CFU L ⁻¹)	(mg L^{-1})	(pg L^{-1})	(ng L^{-1})
2.71	0.435	120 (80)	5.09 (0.06)	0.90 (0.13)	2.4 (0.06)
1.46	0.259	17 (17)	5.04 (0.00)	3.74 (1.92)	2.3 (0.04)
0.712	0.117	940 (940)	5.12 (0.04)	23.30 (0.18)	1.1 (0.03)
3.64	0.552	950 (570)	5.13 (0.02)	8.87 (1.60)	8.9 (0.01)
2.13	0.341	507	5.10	9.20	3.7
18.4	0.508	62 (62)	5.20 (0.01)	0.49 (0.10)	5.1 (0.09)
28.6	0.884	280 (260)	4.90 (0.06)	0.50 (0.01)	0.9 (0.06)
33.2	0.332	200 (120)	4.67 (0.01)	2.05 (0.10)	1.4 (0.03)
2.08	2.30	4100 (3000)	5.91 (0.12)	1.36 (0.26)	7.4 (0.0)
20.6	1.0	1160	5.17	1.1	3.7
11.3	2.01	3500 (1000)	5.06 (0.03)	0.29 (0.05)	0.9 (0.07)
15.8	2.92	46 000 (27 000)	5.07 (0.02)	0.50 (0.04)	2.6 (0.29)
17.3	8.62	24 000 (6000)	5.25 (0.02)	0.88 (0.05)	5.4 (0.08)
70.8	8.84	170 000 (150 000)	5.37 (0.02)	1.57 (0.01)	8.1 (0.37)
28.8	5.6	60 875	5.19	0.81	4.25
					1.2

ation of 20 pg L^{-1} was given when no MeHg was detected.

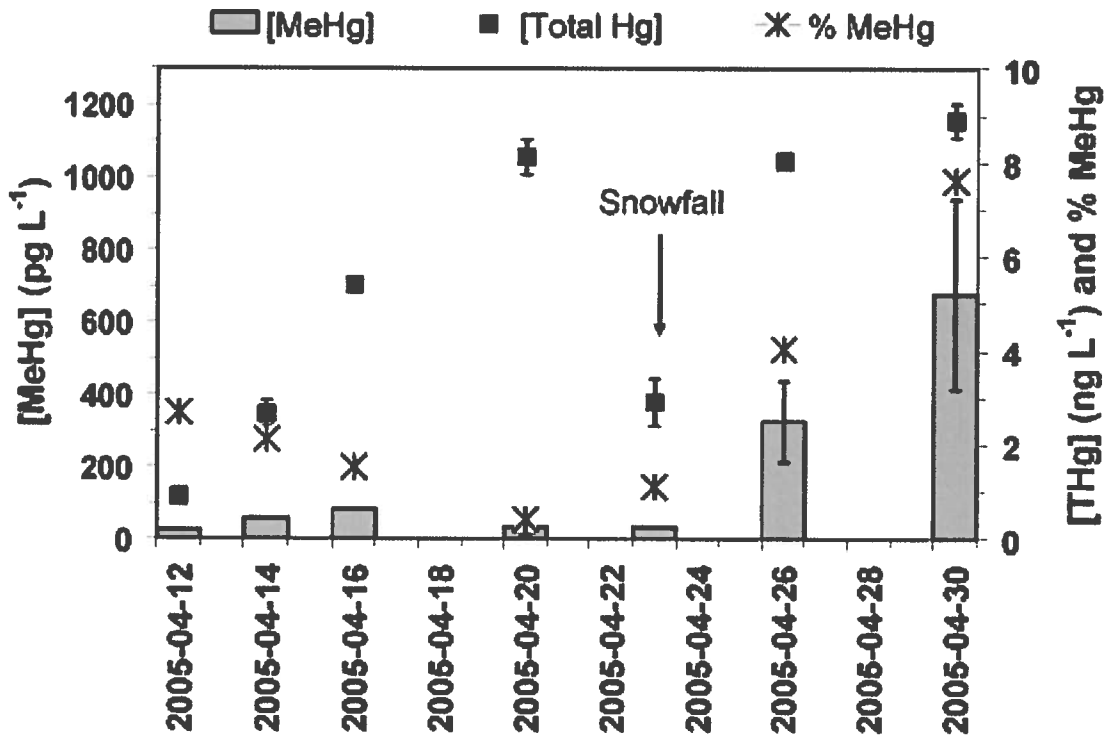


Figure 6.6. Time series for MeHg and THg concentrations measured in snow cover at the CEN station in 2005. The percentage of MeHg was added.

independent processes were involved for the fate of THg and MeHg within the snow pack. As a whole, the percentage MeHg of THg (%MeHg) increased from 2.7% on April 12th to 7.6% on April 30th, at the CEN sampling site. As the %MeHg increase is an indicator for mercury methylation activities in aquatic ecosystems (Kelly et al., 1995; Rudd, 1995), production of MeHg within the snow pack was suspected.

6.8.2.1. An indication for a MeHg production within the snow pack?

Snowmelt water is a significant source of MeHg for the Arctic regions (Loseto et al., 2004a). However, very little is known about the processes involved for the fate of MeHg within the snow cover. Our results provide some new insights on factors that influence the MeHg distribution in the snow pack. As a whole, significant correlations were observed between MeHg and HPC, as well as with TVSS and TSS concentrations (Table 6.3). MeHg snow concentrations higher than 200 pg L⁻¹ were observed when the snow HPC, TVSS and TSS were over 5.0×10^5 CFU L⁻¹, 25 mg L⁻¹ and 90 mg L⁻¹,

respectively (supporting material 3). Microbial biomass and particle contents of the snow cover of the BH station were significantly less important than RIV and CEN sampling stations (Table 6.2). Hence, a site specific statistical analysis showed that the snow pack of the BH station was unique in that the MeHg snow concentrations were not linked to HPC, TVSS or TSS (Table 6.3). Taken together, these results suggest that the rise of MeHg snow concentrations observed at the CEN station was either caused by (I) a MeHg leaching from the organic/inorganic particles deposited into the snow pack which tended to be concentrated as the snow melted or (II) a MeHg production within the snow pack. Both possibilities are discussed below.

Table 6.3. Pearson correlation coefficients obtained between MeHg snow concentrations with TSS, TVSS and HPC for snow samples collected at BH, RIV and CEN stations in April 2005.

	TSS	TVSS	HPC
[MeHg] _(BH)	-0.0699 ($\alpha > 0.05$)	-0.0596 ($\alpha > 0.05$)	-0.289 ($\alpha > 0.05$)
[MeHg] _(RIV)	0.611 ($\alpha > 0.05$)	0.966 ($\alpha < 0.025$)	0.999 ($\alpha < 0.01$)
[MeHg] _(CEN)	0.886 ($\alpha < 0.005$)	0.710 ($\alpha < 0.025$)	0.956 ($\alpha < 0.005$)
[MeHg] _(BH+RIV+CEN)	0.893 ($\alpha < 0.005$)	0.748 ($\alpha < 0.005$)	0.951 ($\alpha < 0.005$)

In Swedish forests, the most important input of MeHg was litterfall, with an annual flux of $0.24 \mu\text{g m}^{-2} \text{y}^{-1}$ (Munthe et al., 1995). Since the CEN sampling site was bordered by coniferous trees, litterfall may have contributed to the MeHg pools detected in the snow samples. Unfortunately, the organic and inorganic particles of the snow were not analyzed for THg and MeHg. Nevertheless, MeHg concentrations in needles of 0.10 ng g^{-1} were reported for jack pine in Experimental Lake Area (Hall et al., 2004). Assuming similar MeHg concentrations for the coniferous needles of Whapmagoostui-Kuujuarapik, litterfall contributed for less than 2.2% of the MeHg detected in the snow samples. Consistent with this assumption, there was an inverse relationship between the concentrations of MeHg and FVSM in the snow pit constructed on April 12th (Table 6.4).

However, since the MeHg concentrations were not measured in snow solid phase, the real input of MeHg by litterfall is still unknown.

Microbial activities and abiotic reactions might have produced MeHg within the snow pack. Snow and ice environments are known to contain various microorganisms. During their studies in the Tateyama Mountains (Japan), Segawa and coworkers detected $1.0 \times 10^5 \pm 5.6 \times 10^4$ bacteria cells per mL in their snow samples collected at different depths (Segawa et al., 2005). Previous works had already shown that leaves placed under the snow represented an important source of dissolved organic matter (DOC) for planktonic heterotrophic microorganisms in a rocky mountain stream (McKnight et al., 1993). At the CEN sampling station, the presence of coniferous needles in the snow pack represented a potential organic matters source for the viable biomass, as the HPC increased as a function of TVSS ($r^2 = 0.86$; $\alpha < 0.005$). A complex set of reactions involving humic acids and microbial secondary metabolites may have catalyzed some Hg methylation activities during the snow melting period. In a recent assessment, microbiology, temperature, pH, organic material, redox conditions, sulfide concentration and salinity were reported as the main parameters influencing the Hg methylation activity in aquatic environments (Ullrich et al., 2001). Since the pH of the snow was acidic, the air temperature was $-0.60 \pm 7.0^\circ\text{C}$ and organic matter as well as active biomass were present in the snow cover, there was a potential for biotic mercury methylation activities within the melting snow cover.

Sulfate-reducing bacteria (SRB) represent the principal Hg methylators in anoxic microenvironments (Compeau and Bartha, 1985). Nonetheless, as observed elsewhere (Loseto et al., 2004b), the presence of SRB was insignificantly correlated with the MeHg snow concentrations (data not shown). Since diverse bacteria, algae and fungi species are known for their ability to generate MeHg *in vitro* (Barkay and Wagner-Döbler, 2005), further studies have to be conducted in order to investigate the snow microbial population structure and distinguish the importance of biotic and abiotic reactions for the fate of MeHg within the snow pack.

Table 6.4. MeHg, THg, TVSS snow concentrations, %MeHg and HPC for snow samples collected before on April 12th and April 26th 2005 at two different depths at the CEN station. Standard deviations are given in the parentheses.

Parameters	Units	March 12 th	March 26 th
MeHg (0 – 10 cm)	pg L ⁻¹	24	324 (112)
MeHg (10 – 20 cm)	pg L ⁻¹	20	32.3
THg (0 – 10 cm)	ng L ⁻¹	0.895 (0.0686)	8.03 (0.146)
THg (10 – 20 cm)	ng L ⁻¹	2.75 (0.0792)	2.53 (0.126)
%MeHg (0 – 10 cm)	%	2.7	4.0
%MeHg (10 – 20 cm)	%	0.73	1.3
TVSS (0 – 10 cm)	mg L ⁻¹	2.01	70.4
TVSS (10 – 20 cm)	mg L ⁻¹	16.7	4.06
HPC (0 – 10 cm)	CFU L ⁻¹	3500 (1000)	450 000 (330 000)
HPC (10 – 20 cm)	CFU L ⁻¹	N/A	19 000 (11 000)

6.9 Perspectives

The results reported in this paper extended previous studies that reported a relationship between MeHg and DOC snow concentrations (Loseto et al., 2004a,b). During the snow melt period, the highest MeHg concentrations observed at the CEN station (700 pg L⁻¹) was more than two fold higher than the maximal concentrations observed in the Canadian high Arctic (Lahoutifard et al., 2005; St. Louis et al., 2005). Opposite to barren sites such as the ice covering lakes and rivers, the northern glaciers and the high Arctic ecosystems, snow cover of Whapmagoostui-Kuujjuarapik, a region bordered by coniferous trees should contain more organic carbon. In addition to

adsorbing MeHg, DOC may promote microbial activities in snow, as the weather is warming. The simulation of biotic and/or abiotic Hg methylation reactions by the input of organic matters such as coniferous needles, observed in aquatic samples (Hall et al., 2004), may also occur during the snowmelt.

One of the anticipated consequences of climate change is a lost of the sub-arctic ecosystems due to an increase of annual primary production and the emergence of coniferous (Rizzo and Wiken, 1992; Goetz et al., 2005). The results presented in this paper suggest that this migration of the ecosystem boundaries will promote the MeHg production processes in the snow cover of the northern ecosystems. In the perspective of the global Hg biogeochemical cycle, the snow cover of the forests located in the midlatitudes should also be sight as a potential source of MeHg. More investigations dedicated to the spatial and temporal distribution of snow MeHg concentrations are warranted. However, the THg and MeHg snow fates described in this study were the results of a complex set of environmental processes. Although the exact mechanisms responsible for the rise of MeHg snow concentrations during the snowmelt were not identified, results suggest that atmospheric deposition was not the prevailing process:

- MeHg concentrations observed at the BH, RIV and CEN stations were not following the same patterns (incidence of site-specific processes)
- Significant correlations were observed between MeHg concentrations with TVSS, TSS and HPC (potential for abiotic and biotic reactions)
- The %MeHg increased as a function of time within the CEN snow pack

Further studies are needed to distinguish the MeHg leaching from the snow particles and the production of MeHg within the snow pack. The MeHg demethylation activities observed in the snow cover when the air temperature was below the freezing point need to be investigated during the snowmelt.

6.10 Acknowledgements

LP would like to thank Environment Canada and ArcticNet for funding supports. PC is grateful to the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT) for his 2005-2008 scholarship. Authors would thank the Centre d'Études

Nordiques (Université Laval) with special attention to Claude Tremblay (U. Laval) and Martin Pilote (EC) for their excellent field assistance. The authors are grateful to Dr. Derek Muir, Ariane Bisailon, Sébastien Bigras and Julien Guimond as well as two anonymous reviewers for their critical comments about the manuscript.

6.11 Supplementary material 1: Estimation of MeHg deposition

On March 18th, it was supposed that the rise of MeHg snow concentrations originated from marine aerosols. Over a period of 4.5 hours, MeHg concentrations increased from 51.7 to 134.1 pg L⁻¹ (Table 1).

Table 6.5. MeHg snow concentrations detected in snow samples collected near the CEN.

Time	[MeHg] (pg L ⁻¹)
2004-03-18 08:30	51.7
2004-03-18 13:00	134.1
2004-03-18 19:00	136.2

The equation 1 provided an estimation of the MeHg deposition (in pg m⁻² h⁻¹) observed on March 18th.

$$MeHg_{(dep.)} = \frac{\delta[MeHg] \times SWE}{\delta t} \quad (\text{Equation 1})$$

$\delta[MeHg]$ is the MeHg concentration gradient (pg L⁻¹), SWE is the snow water equivalent (L) and δt is the specified time interval (h). SWE was estimated following the equation 2.

$$SWE = 237 \frac{kg}{m^3} \times 0.1 m^3 \quad (\text{Equation 2})$$

237 kg m⁻³ is the snow density measured on March 18th. According to the American Meteorological Society, freshly fallen snow has a density of 70 to 150 kg m⁻³, while firm snow has a maximum density of 910 kg m⁻³. Snow density was estimated daily at the CEN by pushing a 2 L graduated cylinder into the snow cover. The volume of snow was recorded before being melted in the laboratory to derive snow density. Since samples dedicated to MeHg analyses were collected within the first 10 cm of the snow cover, a 1 m² deposition area corresponded to a sampled volume of 0.1 m³. It was then estimated that 434 pg MeHg m⁻² h⁻¹ were deposited on the snow cover of the sampling site.

6.12 Supplementary material 2: Potential for MeHg demethylation activity: a case study

The MeHg degradation rate constants were calculated following the equation 1 (Marvin-Dipasquale et al., 2000):

$$k_{\text{Deg}} = -\ln(1 - f) * \Delta t^{-1} \quad (\text{equation 1})$$

In this equation, f is the fraction of MeHg degraded over a specific time period (Δt). By using this equation, it is assumed that no MeHg atmospheric deposition or Hg methylation processes occurred over the specified period (Δt). In the following, an example is given for the night of April 18th:

Table 6.5. THg MeHg snow concentrations detected in snow samples collected near the CEN.

Time	[THg] (ng L ⁻¹)	[MeHg] (pg L ⁻¹)
2004-03-17 19:00	2.56 ± 0.501	117 ± 24.4
2004-03-18 08:30	4.84 ± 0.343	51.7 (6.45)

$$(\Delta t = 0.56 \text{ d}; \Delta \text{MeHg} = 65.3 \text{ pg L}^{-1}; f = 0.5581)$$

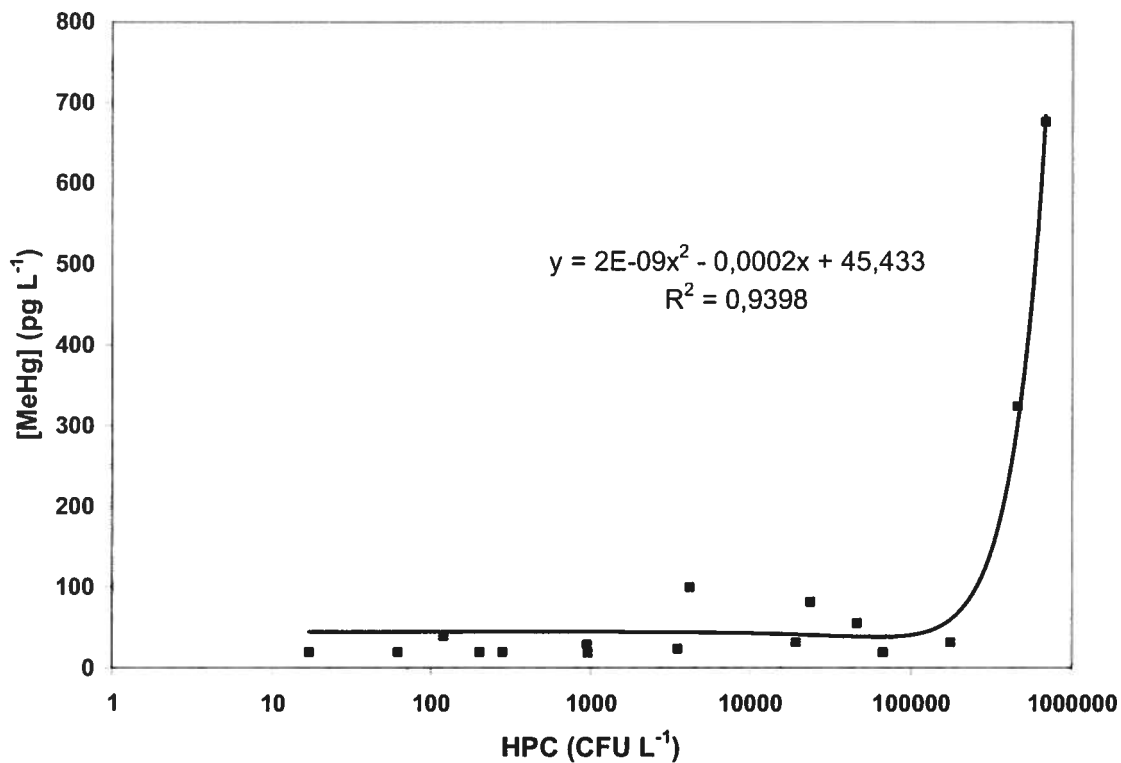
$$k_{\text{Deg}} = -\ln(1 - 0.5581) * 0.56^{-1}$$

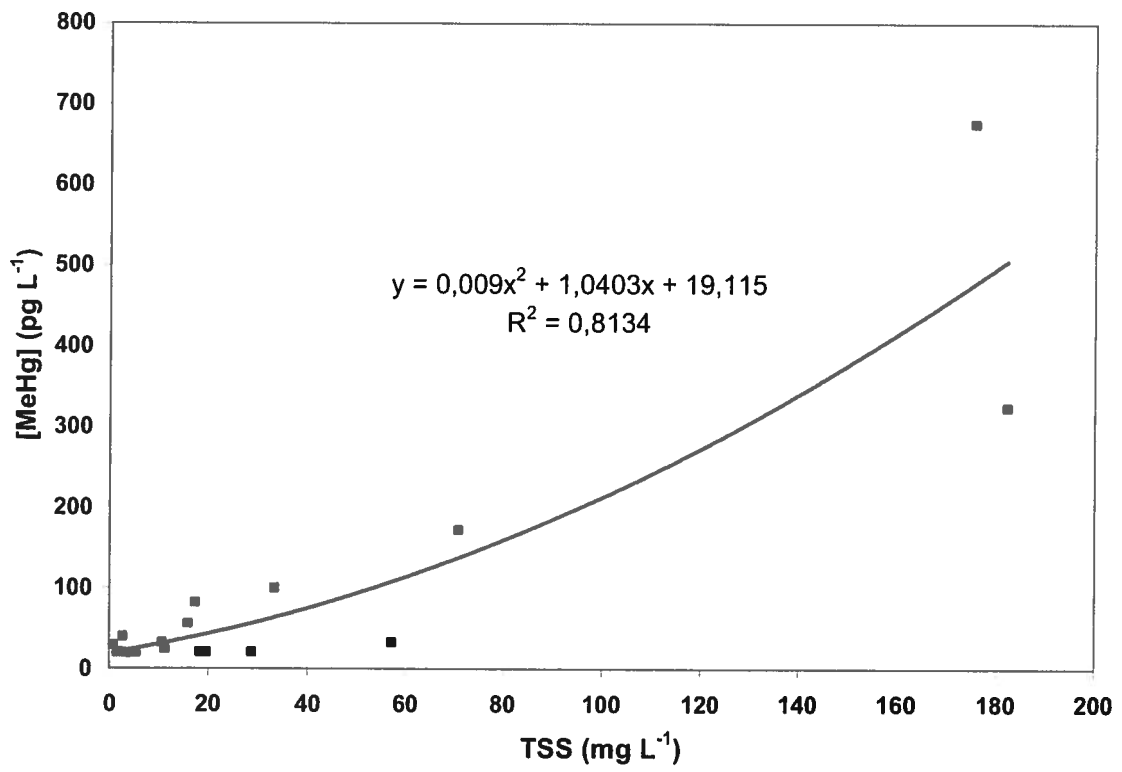
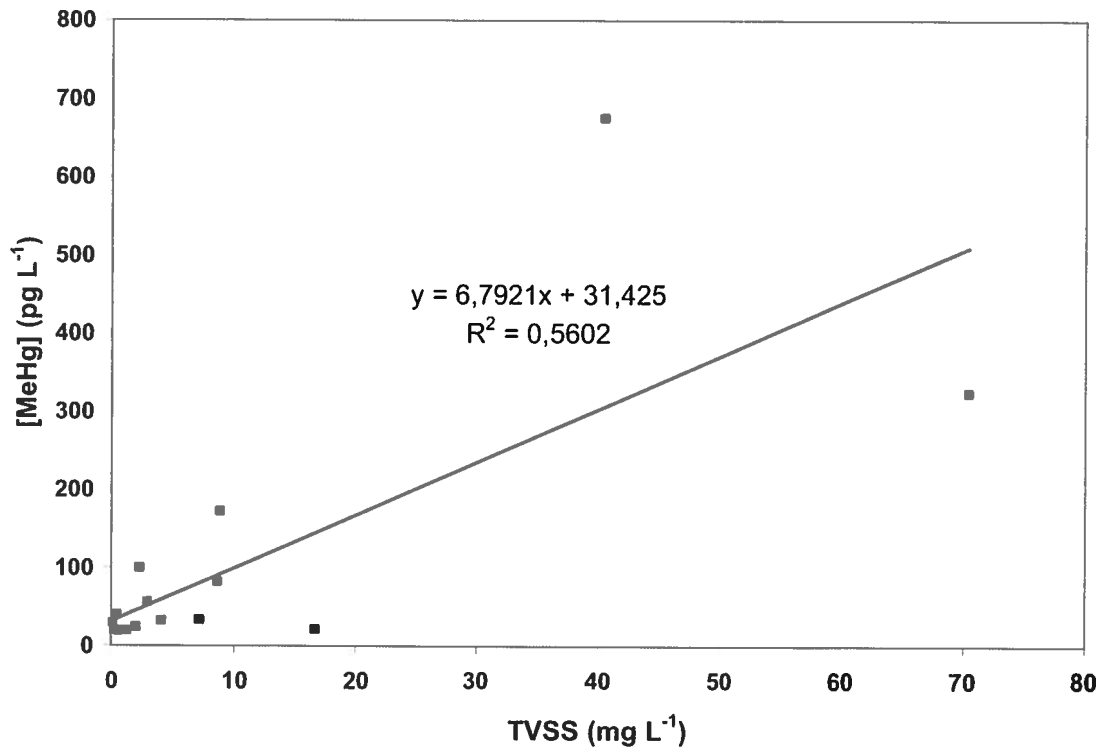
$$k_{\text{Deg}} = 1.46 \text{ d}^{-1}$$

Based on these calculations, the k_{Deg} of MeHg varied from 0.28 to 1.5 d⁻¹. These k_{Deg} corresponded to a demethylation of 15 to 56% of the MeHg present in the surface snow, during the night. For comparison, less than 6% of the added MeHg (0.26 to 1.15 µg of Hg^{II}, as ¹⁴CH₃HgI) was demethylated over a 24 h incubation period for water samples collected in an oligotrophic lake (Korthals and Winfrey, 1987).

6.13 Supplementary material 3: Microbial biomass, particle contents and MeHg snow concentrations

In the following are given the regression curves between MeHg snow concentrations and HPC, TVSS and TSS. These regressions suggest that snow covering the ice layer of lakes and rivers as well as the barren sites represent a minor source of MeHg. MeHg concentrations higher than 200 pg L⁻¹ were observed in snow samples collected at sites with important microbial biomass and particle contents. Hence, mercury methylation may be a common process occurring also in the midlatitudes during the snow melt period.





7 DISCUSSION

Les objectifs de ce programme de recherche consistaient à caractériser les dépôts secs du H₂ atmosphérique et à identifier des sources potentielles du MeHg détecté dans le manteau neigeux subarctique tout en étudiant sa stabilité dans la neige. Cette section discute d'abord de l'importance des résultats obtenus, tout en identifiant quelques aspects spécifiques qui mériteraient une attention particulière lors de futures investigations. Les résultats obtenus sont ensuite utilisés pour décrire des scénarios anticipant l'influence du changement global de la biosphère sur le cycle biogéochimique du H₂ et du Hg en utilisant les écosystèmes arctique et subarctique comme modèle dû à leur susceptibilité au réchauffement global.

7.1 Le dépôt sec du H₂

Les flux micrométéorologiques du H₂ ont été mesurés pendant une période de 1 an à la station de recherche de St-Anicet, localisée au sud-ouest de Montréal. L'importance de cette série temporelle vient du fait qu'il s'agit du premier bilan annuel des échanges surface-air de H₂ rapporté en continent américain. Le site à l'étude représentait un puits pour le H₂ puisqu'un flux moyen de $-0.34 \text{ mg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, correspondant à une vitesse de dépôt sec de $0,15 \text{ cm s}^{-1}$, a été mesuré. Cette vitesse de dépôt est dans la borne supérieure de celles qui ont été mesurées en Eurasie et corrobore ainsi avec les modèles qui montraient que le terme de dépôt atmosphérique moyen rapporté dans la littérature sous-estimait l'importance réelle des pertes de H₂ au sol dans l'hémisphère nord (Hauglustaine et Ehhalt, 2002). Parmi les paramètres mesurés, la température du sol était celui qui expliquait le plus la variation des flux de H₂. Le dépôt sec du H₂ était maximal au début de l'automne, alors que des émissions significatives étaient observées à la fin de la fonte des neiges, lorsque le sol était saturé en eau. Une division de la base de données en trois zones de température distinctes (de -10 à 0°C , de 0 à 10°C et de 10 à 20°C) a permis d'observer que le dépôt sec du H₂ suivait un cycle diurne lorsque la température du sol était entre 10 et 20°C . Dans ces conditions, le dépôt sec du H₂ était corrélé avec la fixation du CO₂ ainsi que l'évapotranspiration, ce qui suggérait que la diffusion du H₂ dans le sol, influencée par l'humidité, était un facteur limitant. Cette observation est

importante puisqu'elle indique que le plan d'échantillonnage à établir pour mesurer les flux de H₂ doit tenir compte de leur cycle diurne afin de ne pas les surévaluer ou les sous-estimer, particulièrement lorsque des méthodes non automatisées sont employées.

Après avoir documenté les flux annuels du H₂ à l'échelle écosystémique, des travaux ont été effectués en laboratoire dans le but d'identifier des micro-organismes qui pourraient être impliqués dans la consommation du H₂ troposphérique. Cette portion du programme de recherche constituait un réel défi puisque les tentatives réalisées au cours des trois dernières décennies n'ont guère permis d'identifier les micro-organismes ayant une forte affinité pour le H₂ (K_m inférieur à 100 ppmv). Une méthode originale, la DMC, a été mise au point pour les besoins de l'étude. La stratégie combinait le suivi de l'activité de consommation du H₂ avec celui de la structure des populations microbiennes d'un échantillon de sol stérile inoculé avec un extrait de sol microbien. Il fut alors possible de corréler le développement de l'activité de consommation du H₂ avec l'émergence de certains micro-organismes. L'efficacité de la stratégie fut établie par l'isolement de *Streptomyces* sp. PCB7, le premier micro-organisme démontrant une activité de consommation du H₂ à haute affinité (K_m de 11 ppmv). Contrairement aux stratégies utilisées auparavant, l'enrichissement du consortium à haute affinité pour le H₂ fut effectué en absence d'air amendé en H₂. Le sol inoculé était incubé sous une atmosphère dynamique constamment renouvelée avec l'air ambiant du laboratoire, évitant ainsi l'enrichissement des bactéries ayant une faible affinité pour le H₂.

Les travaux réalisés pour caractériser les dépôts secs du H₂ de l'échelle écosystémique à l'échelle microbiologique représentent une contribution majeure dans le domaine de la microbiogéochimie du H₂. Les résultats obtenus, ainsi que l'article de revue soumis, stimuleront probablement l'élaboration de futures études visant à caractériser davantage ce terme du budget du H₂. En ce qui concerne le cycle annuel des échanges surface-air du H₂, il serait intéressant d'analyser de manière plus spécifique les processus ayant lieu dans le manteau neigeux. En mesurant simultanément les flux micrométéorologiques du H₂ ainsi que le profil vertical de ses concentrations dans l'air interstitiel de la neige, il serait possible de vérifier si le H₂ diffuse du sol vers l'atmosphère et permettrait de déterminer la réactivité du manteau neigeux à l'égard de ce gaz à l'état de trace. Ces mesures pourraient être accomplies jusqu'à la fonte des neiges

afin de déterminer l'origine des émissions de H₂ printanières observées à la station de St-Anicet (Figure 3.4).

Par ailleurs, la stratégie qui fut développée pour isoler la souche PCB7 permettrait non seulement de connaître de nouveaux micro-organismes ayant une forte affinité pour le H₂, mais aussi ceux qui sont impliqués dans la production ou la consommation d'autres gaz à l'état de trace. Cette méthode comporte cependant quelques limites, inhérentes aux stratégies employant la microbiologie classique. Tel que mentionné dans l'article 3, certains micro-organismes non cultivables dans les conditions testées pourraient aussi avoir eu un rôle à jouer dans les échanges de H₂ mesurés dans la DMC. Plusieurs facteurs dont le type de milieu de culture utilisé et les modifications chimiques et physiques subies par le sol lors de sa stérilisation font en sorte que les micro-organismes cultivables représentent qu'une faible proportion de la population présente dans l'échantillon de sol du départ. D'autre part, l'isolement d'une souche démontrant la capacité de consommer le H₂ troposphérique à partir d'un échantillon de sol ne signifie pas nécessairement que cette dernière est responsable des échanges de H₂ observés dans les conditions naturelles. L'isolement de souches démontrant cette activité métabolique est cependant une étape incontournable avant de planifier des études dédiées à lier la diversité fonctionnelle des micro-organismes présents dans un sol naturel avec le dépôt sec du H₂.

Ayant identifié le premier micro-organisme consommant le H₂ atmosphérique, la prochaine étape consisterait donc à faire des études spécifiques visant à caractériser son activité et déterminer son importance dans l'environnement. En premier lieu, des travaux seront nécessaires pour valider l'hypothèse de la [NiFe]-hydrogénase mentionnée dans l'article 3. Considérant que les gènes codant pour une [NiFe]-hydrogénase membranaire (*hypA-F*) sont présents dans le génome de *S. avermitilis* (Ikeda et al., 2003), ceux-ci pourraient être utilisés pour développer des amorces qui permettraient de détecter la présence de ces gènes chez la souche PCB7. Sinon, une approche plus directe pour déceler la présence de [NiFe]-hydrogénase chez la souche PCB7 consisterait plutôt à séquencer son génôme. Ces essais de détection devront cependant être complétés par la purification des hydrogénases de la souche PCB7, suivie de la caractérisation de leur cinétique d'oxydation du H₂. C'est seulement à la suite de ces expériences que des outils moléculaires pourront être développés pour détecter les hydrogénases à haute affinité

dans l'environnement et pour caractériser ce métabolisme. Il sera alors possible d'étudier l'écologie des micro-organismes ayant une forte affinité pour le H₂ par des méthodes indépendantes de la culture et de corrélérer leur abondance avec les échanges surface-air du H₂ mesurés dans différents écosystèmes.

7.2 Le MeHg dans le manteau neigeux subarctique

Les deux campagnes d'échantillonnage réalisées à Whapmagoostui-Kuujuarapik ont permis d'identifier trois sources potentielles de MeHg pour le manteau neigeux : les aérosols marins, les particules organiques et inorganiques ainsi qu'une production *in situ* suivant l'action de micro-organismes ou de réactions abiotiques. Au début du printemps, lorsque la température était inférieure à -10°C et que le site subissait des ELMA, les aérosols marins représenteraient la plus importante source de MeHg pour le manteau neigeux. Une fois déposé, le MeHg serait instable puisque ses concentrations tendaient à diminuer durant la nuit. À la fin du printemps, lorsque la température était supérieure au point de congélation et que la fonte des neiges était amorcée, un lessivage des particules déposées dans la neige ou une production *in situ* expliquerait l'augmentation des concentrations de MeHg observées dans la neige. Considérant les données disponibles dans la littérature, les débris organiques présents dans la neige seraient responsables de moins de 2,2% du MeHg détecté. D'autre part, la corrélation entre les concentrations de MeHg et les dénombrements de bactéries hétérotrophes de la neige suggère qu'il pourrait y avoir des micro-organismes impliqués dans la méthylation du Hg_I déposé dans le manteau neigeux. Étant donné que les bactéries cultivables représentent seulement une faible proportion des micro-organismes présents dans l'environnement, d'autres travaux seront évidemment nécessaires pour vérifier s'il y a une méthylation biologique du Hg dans la neige.

Les travaux réalisés pour identifier les sources potentielles de MeHg détecté dans le manteau neigeux vont probablement inspirer l'élaboration de programmes de recherche visant à caractériser davantage la réactivité du manteau neigeux à l'égard du Hg réactif et du MeHg. En premier lieu, des études spécifiques seront nécessaires pour découvrir le mécanisme exact impliqué dans les pertes de MeHg nocturnes. Ces pertes nocturnes du MeHg sont importantes puisqu'elles constituent un mécanisme de détoxification limitant les risques d'exposition du biota arctique.

Par ailleurs, l'augmentation du rapport "MeHg/Hg total" est indicateur d'une production de MeHg, mais les données actuelles ne permettent pas de confirmer l'existence d'un tel processus. Lors de prochaines campagnes d'échantillonnage, il serait important d'effectuer le fractionnement des échantillons de neige fondue avant les analyses physico-chimiques. En établissant un bilan précis du Hg_{Org} et Hg_I particulaire et dissous, il sera alors possible de déterminer le rôle réel des particules. Les souches bactériennes isolées de la neige pourraient également être testées en laboratoire pour leur capacité à méthyler le Hg_I. Pour ce faire, il suffirait d'inoculer les souches dans un milieu de culture minimal amendé en HgCl₂ et de suivre l'évolution des concentrations de Hg_I et Hg_{Org} au cours d'une incubation. Même si les bactéries isolées ne représentent qu'une faible proportion des micro-organismes présents dans la neige, l'identification de nouvelles souches (autres que des BRS) démontrant la capacité de méthyler le Hg_I stimulerait de nouvelles recherches sur les micro-organismes dont le rôle dans le cycle du Hg est demeuré méconnu. Étant donné que la neige est un milieu extrême où la disponibilité des nutriments est limitante, ces derniers essais en milieux de culture devraient être complétés par une seconde série d'expériences plus représentatives des conditions de l'environnement. Sachant que les micro-organismes et le Hg tendent à s'absorber sur les particules organiques et inorganiques de la neige, une stratégie prometteuse serait l'inoculation des souches sur des épines de conifères (retrouvées dans la neige de Whapmagoostui-Kuujuarapik), qui seraient ensuite déposées sur un échantillon de neige naturel. Cet échantillon de neige pourrait être prélevé sur le couvert de glace de la rivière de la Grande Baleine. Les échantillons de neige seraient incubés à 4-6°C jusqu'à leur fonte avant d'effectuer les analyses microbiologiques et physico-chimiques requises. Idéalement, ces deux séries d'expériences pourraient être accomplies en utilisant des isotopes stables du Hg (CH₃²⁰¹HgCl et ¹⁹⁹HgCl₂), ce qui permettrait d'étudier simultanément les réactions de méthylation du Hg_I et de déméthylation du MeHg. Ces essais pourraient aussi être faits sans inoculation pour être encore plus représentatif du milieu naturel. Une telle approche a d'ailleurs déjà été utilisée pour étudier la diagenèse du Hg (Rodríguez Martín-Doimeadios et al., 2004).

7.3 Intégration des résultats dans une perspective du changement global

L'objectif de cette section est d'utiliser une approche intégrée pour élaborer des scénarios envisageables concernant l'impact du changement global de la biosphère sur le cycle biogéochimique du H₂ et du Hg. Puisque les écosystèmes arctique et subarctique sont ceux qui subiront la plus forte influence du réchauffement global, ils serviront de modèle pour l'établissement des scénarios. Ces derniers seront basés sur la littérature, les résultats présentés aux parties I et II de la thèse ainsi que d'autres résultats encore non publiés. À la lumière des données disponibles, il est raisonnable d'anticiper que la variance du terme de dépôt sec du H₂ ainsi que les décharges printanières du MeHg via l'eau de la fonte des neiges augmentent en réponse au changement global. Le texte qui suit fait une description du raisonnement ayant mené à l'énoncé de cette hypothèse qui pourra éventuellement être vérifiée lors de futures campagnes de mesures (Figure 7.1).

7.3.1 Le changement global du point de vue des écosystèmes arctique et subarctique

L'élévation de la température moyenne annuelle des écosystèmes nordiques amorcée au cours de la seconde moitié du siècle dernier a induit des changements significatifs dans le biota (Callaghan et al., 2005). En s'intensifiant, ce réchauffement déclenchera une boucle de rétroaction positive entre la production primaire et la fonte du manteau neigeux (Figure 7.1). La hausse des températures favorise une expansion de la végétation qui vient diminuer l'albédo de l'écosystème (Sturm et al., 2001), accélérant ainsi la fonte des neiges printanière, et prologant par le fait même la période où la production primaire est efficace. Des méthodes d'imagerie ont d'ailleurs déjà permis d'observer une expansion des plantes vasculaires (arbustes) dans la toundra arctique (Stow et al., 2004). L'augmentation de la production primaire déclenche une compétition entre les différentes espèces végétales, où les espèces allochtones sont rarement défavorisées lorsque l'eau et les nutriments sont disponibles. À titre d'exemple, l'émergence des plantes vasculaires est responsable de la diminution de la biomasse du lichen à cause de la compétition pour la lumière (Cornelissen et al., 2001). Combinée à cette boucle de rétroaction déclenchée par une hausse de la température moyenne annuelle, l'augmentation des concentrations de CO₂ atmosphérique exerce un effet de fertilisation pour la végétation. Dans le futur, les frontières délimitant les écozones actuels

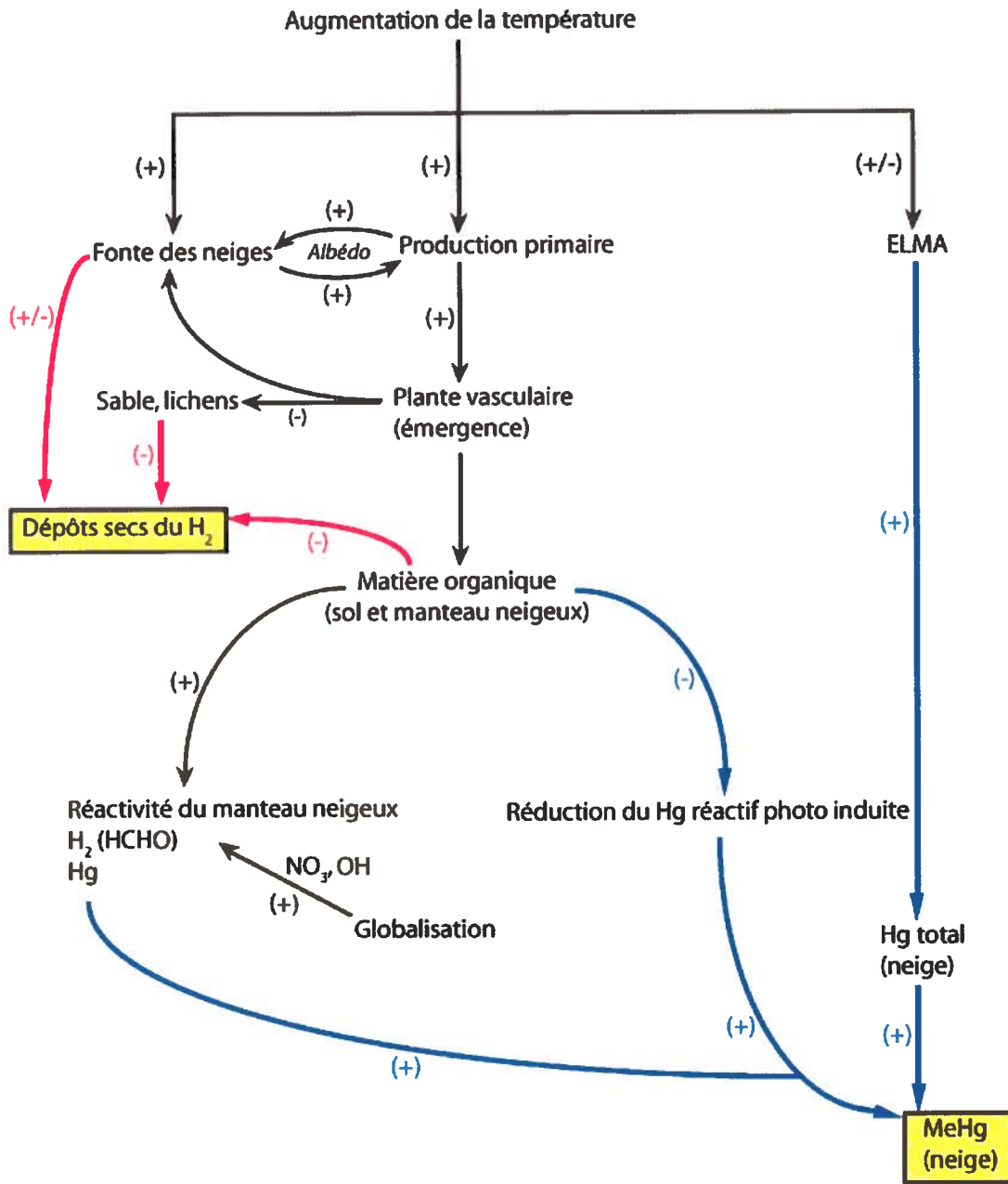


Figure 7.1. Impact potentiel du changement global (flèches noires) sur les dépôts secs du H₂ (flèches rouges) et les décharges printanières de MeHg dans les écosystèmes arctique et subarctique (flèches bleues). Les signes associés à chacun des vecteurs indiquent la rétroaction positive (+) ou négative (-) qu'un changement donné exerce sur un processus.

subiront d'importants changements (Callaghan et al., 2005). En ce qui concerne les écosystèmes subarctiques, la hausse de la production primaire changera de manière significative le paysage. La frontière actuelle délimitant l'écozone de la taïga du bouclier de l'écozone du bas-arctique se déplacera plus au nord, en réponse à l'émergence des arbustes et des conifères (Kaplan et al., 2003).

Plusieurs recherches interdisciplinaires sont actuellement en cours pour déterminer la variation du bilan du carbone et des nutriments des régions nordiques en réponse au changement global. Par ailleurs, la modification du bilan régional du H₂ et du Hg est une conséquence qui demeure jusqu'à maintenant inadéquatement documentée.

7.3.2 Impact du réchauffement global sur la microbiogéochimie du H₂ et du Hg

Il y a peu de données rapportant la vitesse de dépôt sec du H₂ dans les écosystèmes subarctiques. Actuellement, les seules données disponibles proviennent d'une courte campagne de mesures réalisées en Alaska où les vitesses de dépôt sec du H₂ variaient autour de $0,044 \pm 0,013 \text{ cm s}^{-1}$ dans une forêt de conifères matures et $0,073 \pm 0,015 \text{ cm s}^{-1}$ dans une forêt récemment incendiée (Rahn et al., 2002a). Cette différence entre les vitesses de dépôt sec mesurées fut attribuée au contenu en matière organique du sol, qui était plus important dans la forêt mature qu'au site récemment incendié. La corrélation inverse entre le contenu en carbone organique du sol et le dépôt sec du H₂ fut également observée sur des dépôts volcaniques où l'émergence de la végétation était accompagnée d'une diminution des pertes de H₂ au sol (King, 2003a; King et Webber, 2008).

Récemment, une campagne de mesures entreprises à Whapmagoostui-Kuujuarapik a permis de classer les différents substrats du sol de la région selon leur capacité à consommer le H₂ troposphérique. La vitesse de dépôt sec du H₂, estimée en utilisant une chambre à flux statique, diminuait en suivant la séquence : sable > lichen \approx mousse > mares (Tableau 7.1). Le point de compensation du H₂ spécifique à chacun de ces substrats montre que le sol sablonneux est celui dont le rapport consommation/production du H₂ est le plus élevé. Cette tendance pourrait aussi être expliquée par l'influence du contenu en carbone organique du sol. Le sol sablonneux représente un environnement favorable aux micro-organismes autotrophes, alors que les hétérotrophes peuvent utiliser la matière organique labile retrouvée dans le sol recouvert

de lichen et de mousse. Ce type d'interprétation de la distribution spatiale des vitesses de dépôt sec du H₂, autant dans cette étude que celle réalisée dans une forêt boréale (Rahn et al., 2002a) ou le long d'un gradient de dépôts volcaniques (King, 2003a; King et Webber, 2008), demeure néanmoins préliminaire et hypothétique, car une simple différence dans le contenu en eau des sols étudiés pourrait avoir affecté la diffusion du H₂. Pour être valables, ces observations devront être appuyées par des travaux en laboratoire où différentes fractions d'un échantillon de sol donné, subissant des ajouts de nutriments contrôlés, seront étudiées pour leur capacité à consommer le H₂ troposphérique.

Tableau 7.1. Dépôt sec et point de compensation du H₂ dérivés en utilisant la technique de la chambre à flux statique déployée à Whapmagoostui-Kuujuarapik¹.

Substrat	Vitesse de dépôt sec du H ₂ (cm s ⁻¹)	Point de compensation du H ₂ (ppbv)
Sable	0,034 (0,0085)	138 (115)
Lichen	0,024 (0,0057)	372 (149)
Mousse	0,073 (0,066)	338 (78)
Mare	-0,0061 (0,0065)	572 (146)

¹Données non publiées de Pilote, Constant et Poissant.

En plus d'accroître les quantités de carbone organique dans le sol, l'expansion des plantes vasculaires et l'augmentation des précipitations des écosystèmes arctique et subarctique contribueront à changer l'humidité du sol. Il est donc raisonnable d'anticiper un accroissement de la variabilité des flux de H₂ dans ces écosystèmes dans le futur, en réponse au changement global. Ce bouleversement des flux de H₂ pourrait se traduire par une hausse de la concentration annuelle minimale du H₂ troposphérique suivie depuis 1993 à Alert, au Canada (Figure 7.3, point A).

Au moment de la fonte des neiges printanière, la production de H₂ issue de la fermentation de la matière organique du sol saturé en eau ou de réactions photochimiques risque aussi de s'amplifier. L'apport croissant de carbone organique au manteau neigeux en provenance des végétaux, ainsi que des radicaux tels que les NO₃[·] et les OH[·] d'origine anthropique stimulent les réactions photochimiques qui génèrent entre autres du HCHO,

un précurseur de OH[•], CO et H₂ (Grannas et al., 2004) (Figure 7.1). Ces émissions potentielles de H₂ pourraient se traduire par une hausse de la concentration maximale annuelle du H₂ troposphérique dans les écosystèmes nordiques (Figure 7.3, point B). Considérant la fonte plus rapide du manteau neigeux, il demeure néanmoins difficile de prédire à quel point l'équilibre entre les sources et puits du H₂ sera bouleversé puisque la saison effective pour les pertes de H₂ au sol sera allongée, prolongeant ainsi la période où les concentrations de H₂ sont les plus basses (Figure 7.3, point C).

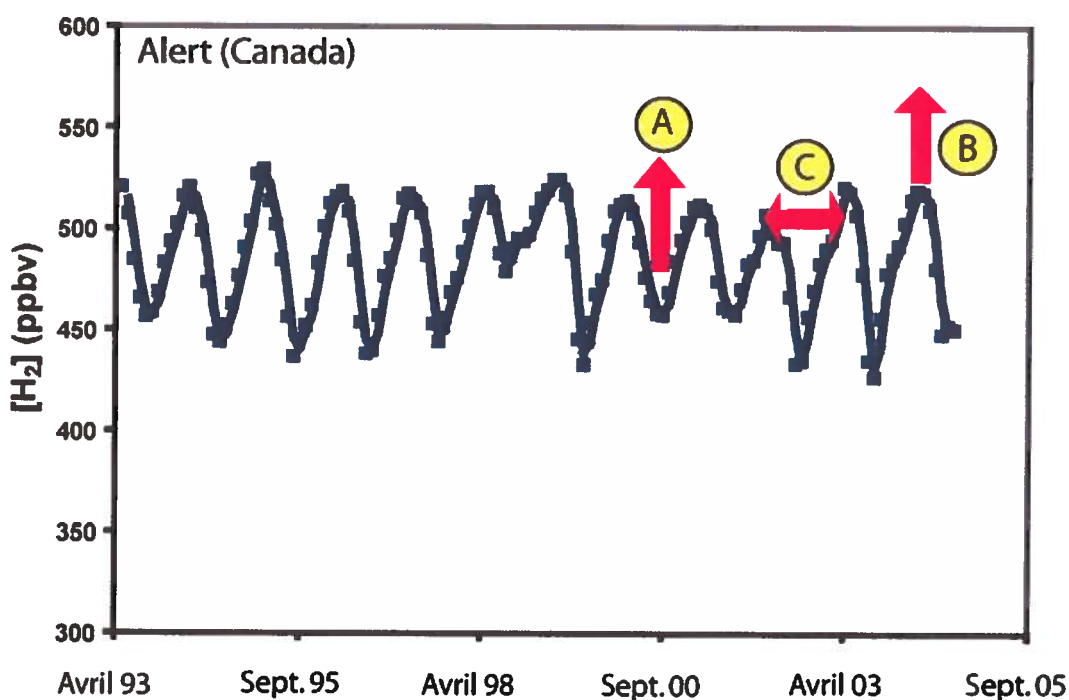


Figure 7.3. Suivi des concentrations de H₂ troposphérique à Alert, Canada. La signification des flèches rouges est indiquée dans le texte.

Quant aux décharges printanières du MeHg, elles seront également influencées par l'émergence des plantes vasculaires dans les écosystèmes arctique et subarctique. Ces plantes représentent non seulement une source de Hg via la décomposition de leur litière (Hall et al., 2004), mais augmentent aussi la durée de vie du Hg réactif dans le manteau neigeux en limitant l'exposition de la neige au rayonnement solaire (Poulain et al., 2007b). Même si des recherches seront nécessaires pour confirmer la présence d'une

production de MeHg dans le manteau neigeux, l'échantillonnage réalisé à Whapmagoostui-Kuujuarapik a démontré que les sites bordés d'arbres et d'arbustes sont ceux où la neige contient les concentrations de MeHg les plus importantes. Il est donc raisonnable d'anticiper une augmentation des décharges printanières du MeHg dans les écosystèmes nordiques, en réponse au changement global.

Les ELMA représentent une source majeure de Hg pour les écosystèmes arctique et subarctique. Certaines observations suggèrent d'ailleurs que ces ELMA sont des phénomènes relativement récents dont l'importance tend à augmenter avec le réchauffement global. Par exemple, l'analyse de profils verticaux des concentrations d'O₃ atmosphériques mesurées entre 1966 et 2000 a révélé un accroissement de la fréquence des ELOA à un taux de $0,66 \pm 0,59\%$ par année (Tarasick et Bottenheim, 2002). Comme les ELOA, les ELMA sont déclenchés par des réactions photochimiques impliquant des halogènes réactifs, causant l'oxydation du Hg⁰_(g) en Hg réactif qui se dépose ensuite dans la neige sous une forme biodisponible. Dans le contexte du changement global, l'étape de largage des halogènes réactifs vers l'atmosphère risque de subir certains bouleversements. Effectivement, le maintien d'une concentration suffisamment forte en halogènes réactifs pour oxyder le Hg⁰_(g) nécessite le rayonnement solaire, une faible turbulence atmosphérique et un recyclage de ces halogènes par les aérosols marins (Lehrer et al., 2004). La source majeure des halogènes réactifs serait la givre (*frost flower*) formée à partir d'une mince couche d'air saturé en eau recouvrant la glace nouvellement formée (Kaleschke et al., 2004). En réponse au réchauffement global, la glace recouvrant l'océan Arctique devient plus instable, favorisant la formation de ce givre concentré en halogènes réactifs. C'est d'ailleurs cette instabilité croissante du couvert de glace qui expliquerait la fréquence croissante des ELOA (Tarasick and Bottenheim, 2002).

Par ailleurs, sachant que les ouvertures formées sur le couvert de glace entraînent une forte turbulence atmosphérique (Alam and Curry, 1995), ces dernières pourraient également contribuer à diminuer la fréquence des ELMA en causant une dilution des halogènes réactifs. Il est donc difficile de déterminer l'impact du changement global sur les ELMA qui pourraient être favorisés jusqu'à un seuil critique où une augmentation de la turbulence réduirait leur importance. D'autres réactions impliquées dans le transfert du Hg atmosphérique au manteau neigeux, telles que l'oxydation du Hg⁰ par le peroxyde

d'hydrogène (H_2O_2), pourraient aussi être influencées par le changement global. Effectivement, l'apport en matière organique et le dépôt atmosphérique de précurseurs anthropique du H_2O_2 dans la neige (Figure 7.1) activerait des réactions photochimiques augmentant ainsi sa charge en Hg biodisponible (Lahoutifard et al., 2006).

8 CONCLUSION

À la lumière des résultats obtenus lors de la réalisation du présent programme de recherche, des études interdisciplinaires seront maintenant nécessaires pour faire une caractérisation de la microbiogéochimie du H₂ et du Hg orientée dans une perspective du changement global.

Dans le cas du H₂, la prochaine étape sera la purification des hydrogénases à haute affinité de la souche PCB7. Lorsque ces hydrogénases auront été caractérisées, des outils moléculaires seront développés pour étudier le métabolisme et l'écologie des micro-organismes consommant le H₂ troposphérique. Il sera alors possible d'intégrer ces études à des programmes de recherche interdisciplinaires visant à déterminer l'effet des différents stress environnementaux sur cette activité métabolique. Ces données, combinées à une meilleure résolution spatiotemporelle des échanges surface-air du H₂, contribueront à améliorer les modèles visant à prédire l'effet d'une modification du facteur d'émission du H₂ sur sa concentration troposphérique. Ces connaissances permettront d'établir un taux d'émission de H₂ acceptable ainsi que des lignes directrices visant à contrôler les émissions de ce gaz à l'état de trace lors de son utilisation comme source d'énergie.

Pour ce qui est du Hg, la prochaine étape sera de confirmer la présence d'une activité de méthylation du Hg dans le manteau neigeux. Sachant que les ELMA sont une source majeure de Hg réactif biodisponible pour les écosystèmes polaires, une attention particulière devra être portée pour comprendre l'impact du changement global sur ces processus atmosphériques. Une étape importante sera l'établissement d'un bilan de masse annuel du Hg qui permettra de quantifier l'importance des ELMA sur la contamination du biota aquatique et terrestre. L'établissement d'un tel bilan de masse nécessitera la collaboration de plusieurs chercheurs pour mesurer simultanément les processus atmosphériques, aquatiques, tant au niveau de la microbiologie que de la chimie, qui sont impliqués dans les réactions de transfert du Hg ainsi que sa bioaccumulation.

Les prochaines recherches nécessiteront donc la formation de consortiums constitués de chercheurs spécialisés autant dans les systèmes macroscopiques que microscopiques. Ces groupes interdisciplinaires permettront d'optimiser l'exploitation, l'interprétation et la diffusion des résultats obtenus.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- ALAM, A. et J. Curry. 1995. Lead-induced atmospheric circulations. Journal of Geophysical Research, vol. 100, p. 4643-4651.
- ALLAN, B. J., Carslaw, N., Coe, H., Burgess, R. A., et J. M. C. Plane. 1999. Observation of the nitrate radical in the marine boundary layer. Journal of Atmospheric Chemistry, vol. 33, p. 129-154.
- AMATO, P., Hennebelle, R., Magand, O., Sancelme, M., Delort, A.-M., Barbante, C., Boutron, C. et C. Ferrari. 2007. Bacterial characterization of the snow cover at Spitzberg, Svalbard. FEMS Microbiology Ecology, vol. 59, p. 255-264.
- ANDERSSON, M., Sommar, J., Gårdfeldt, K. et O. Lindqvist. 2006. Mercury Cycling in the Arctic. In 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant (Madison, Wisconsin, August 6-11).
- ANDREAE, M. O. et P. Merlet. 2001. Emission of trace gases and aerosols from biomass burning. Global Biogeochemical Cycles, vol. 15, p. 955-966.
- ARAGNO, Michel. 1998. The aerobic, hydrogen-oxidizing (knallgas) bacteria. In R. S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey et, G. Sayler (éd.). Techniques in Microbial Ecology. New York, NY, Oxford University Press, 1998. p. 79-112.
- ARIYA, P. A., Dastoor, A., Amyot, M., Schroeder, W. H., Barrie, L., Anlauf, K., Raofie, F., Ryzhkov, A., Davignon, D., Lalonde, J. et A. Steffen. 2004. The Arctic: a sink for mercury. Tellus B, vol. 56, p. 397-403.
- ARKEBAUER, T. J., Chanton, J. P., Verma, S. B. et J. Kim. 2001. Field measurements of internal pressurization in *Phragmites australis* (Poaceae) and implications for regulation of methane emissions in a midlatitude prairie wetland. American Journal of Botany, vol. 88, p. 653-658.
- ARRHENIUS, S. 1896. On the influence of carbonic acid in the air upon the temperature of the ground. Philosophical Magazine and Journal of Science, vol. 41, p. 237-276.
- BAKER, A. K., Beyersdorf, A. J., Doezema, L. A., Katzenstein, A., Meinardi, S., Simpson, I. J., Blake, D. R. et F. S. Rowland. 2008. Measurements of nonmethane hydrocarbons in 28 United States cities. Atmospheric Environment, vol. 42, p. 170-182.
- BALDI, F., Parati, F. et M. Filippelli. 1995. Dimethylmercury and dimethylmercury-

- sulfide of microbial origin in the biogeochemical cycle of Hg. Water, Air, and Soil Pollution, vol. 80, p. 805-815.
- BALDOCCHI, D. D., Hincks, B. B. et T. P. Meyers. 1988. Measuring biosphere-atmosphere exchanges of biologically related gases with micrometeorological methods. Ecology vol. 69, p. 1331-1340.
- BARGAGLI, R., Agnorelli, C., Borghini, F. et F. Monaci. 2005. Enhanced deposition and bioaccumulation of mercury in Antarctic terrestrial ecosystems facing a coastal polynya. Environmental Science and Technology, vol. 39, p. 8150-8155.
- BARKEY, T. et A. J. Poulain. 2007. Mercury (micro)biogeochemistry in polar environments. FEMS Microbiology Ecology, vol. 59, p. 232-241.
- BARKEY, T. et I. Wagner-Döbler. 2005. Microbial transformations of mercury: potentials, challenges, and achievements in controlling mercury toxicity in the environment. Advances in Applied Microbiology, vol. 57, p. 1-52.
- BARNES, D. H., Wofsy, S. C., Fehla, B. P., Gottlieb, E. W., Elkins, J. W., Dutton, G. S. et P. C. Novelli. 2003. Hydrogen in the atmosphere: observations above a forest canopy in a polluted environment. Journal of Geophysical Research, vol. 108, 4197, doi:10.1029/2001JD001199.
- BARRIE, L. A., Bottenheim, J. W., Schnell, R. C., Crutzen, P. J. et R. A. Rasmussen. 1988. Ozone destruction and photochemical reactions at polar sunrise in the lower Arctic atmosphere. Nature, vol. 334, p. 138-141.
- BELL, J. M., Falconer, C., Colby, J. et E. Williams. 1987. CO metabolism by a thermophilic actinomycete, *Streptomyces* strain G26. Journal of General Microbiology, vol. 133, p. 3445-3456.
- BENOIT, J. M., Gilmour, C. C. et R. P. Mason. 2001. Aspects of bioavailability of mercury for methylation in pure cultures of *Desulfobulbus propionicus* (1pr3). Applied and Environmental Microbiology, vol. 67, p. 51-58.
- BENOIT, J. M., Mason, R. P. et C. C. Gilmour. 1999. Estimation of mercury-sulfide speciation in sediment pore waters using octanol-water partitioning and implications for availability to methylating bacteria. Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 18, p. 2138-2141.
- BERG, T., Sekkesaeter, S., Steinnes, E., Valdal, A.-K. et G. Wibetoe. 2003. Springtime

- depletion of mercury in the European Arctic as observed at Svalbard. Science of the Total Environment, vol. 304, p. 43-51.
- BERMAN, M., Chase, T. Jr. et R. Bartha. 1990. Carbon flow in mercury biomethylation by *Desulfovibrio desulfuricans*. Applied and Environmental Microbiology, vol. 56, p. 298-300.
- BERTILSSON, L. et H. Y. Neujahr. 1971. Methylation of mercury compounds by methylcobalamin. Biochemistry, vol. 10, p. 2805-2808.
- BIAGINI, G. A., Finlay, B. J. et D. Lloyd. 1997. Evolution of the hydrogenosome. FEMS Microbiology Letters, vol. 155, p. 133-140.
- BLAIS, J. M., Kimpe, L. E., McMahon, D., Keatley, B. E., Mallory, M. L., Douglas, M. S. V. et J. P. Smol. 2005. Arctic Seabirds transport marine-derived contaminants. Science, vol. 309, p. 445.
- BÖCK, A., King, P. W., Blokesch, M. et M. C. Posewitz. 2006. Maturation of hydrogenases. Advances in Microbial Physiology, vol. 51, p. 1-71.
- BORNEMAN, J. et R. J. Hartin. 2000. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples. Applied and Environmental Microbiology, vol. 66, p. 4356-4360.
- BRAUNE, B. M., Outridge, P. M., Fisk, A. T., Muir, D. C. G., Helm, P. A., Hobbs, K., Hoekstra, P. F., Kuzyk, Z. A., Kwan, M., Letcher, R. J., Lockhart, W. L., Norstrom, R. J., Stern, G. A. et I. Stirling. 2005. Persistent organic pollutants and mercury in marine biota of the Canadian Arctic: an overview of spatial and temporal trends. Science of the Total Environment, vol. 351-352, p. 4-56.
- BRITO, B., Palacios, J.-M., Hidalgo, E., Imperial, J. et T. Ruiz-Argüeso. 1994. Nickel availability to pea (*Pisum sativum* L.) plants limits hydrogenase activity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* bacteroids by affecting the processing of the hydrogenase structural subunits. Journal of Bacteriology, vol. 176, p. 5297-5303.
- BROOKS, P. D., McKnight, D. et K. Elder. 2005. Carbon limitation of soil respiration under winter snowpacks: potential feedbacks between growing season and winter carbon fluxes. Global Change Biology, vol. 11, p. 231-238.
- BROOKS, S. B., Saiz-Lopez, A., Skov, H., Lindberg, S. E., Plane, J. M. C. et M. E. Goodsite. 2006. The mass balance of mercury in the springtime arctic

- environment. Geophysical Research Letters, vol. 33, L13812, doi:10.1029/2005GL025525.
- BRUNKE, E.-G., Labuschagne, C. et F. Slemr. 2001. Gaseous mercury emissions from a fire in the Cape Peninsula, South Africa, during January 2000. Geophysical Research Letters, vol. 28, p. 1483-1486.
- CAI, Y., Jaffé, R., Alli, A. et R. D. Jones. 1996. Determination of organomercury compounds in aqueous samples by capillary gas chromatography-atomic fluorescence spectrometry following solid-phase extraction. Analytica Chimica Acta, vol. 334, p. 251-259.
- CALLAGHAN, T. V., Björn L. O, Chapin III, F. S., Chernov, Y., Christensen, T. R., Huntley B., Ims, R., Johanson M., Riedlinger, D. J., Jonasson, S., Matveyeva, N., Oechel, W., Panikov, N. et G. Shaver. 2005. Arctic Tundra and Polar Desert Ecosystems. In C. Symon, L. Arris, et B. Heal, (éd.). Arctic Climate Impact Assessment. New York, NY.: Cambridge University Press, 2005. p.243-352.
- CALVERT, J. G., Kerr, J. A., Demerjian, K. L. et R. D. McQuigg. 1972. Photolysis of formaldehyde as a hydrogen atom source in the lower atmosphere. Science, vol. 175, p. 751-752.
- CALVERT, J. G. et S. E. Lindberg. 2003. A modeling study of the mechanism of the halogen-ozone-mercury homogeneous reactions in the troposphere during the polar spring. Atmospheric Environment, vol. 37, p. 4467-4481.
- CALVERT, J. G. et S. E. Lindberg. 2004. The potential influence of iodine-containing compounds on the chemistry of the troposphere in the polar spring. II. Mercury depletion. Atmospheric Environment, vol. 38, p. 5105-5116.
- CAMPBELL SCIENTIFIC. 1995. 023/CO₂ Bowen ratio system instruction manual. Campbell Scientific Inc. Edmonton (Canada).
- CARPENTER, E. J., Lin, S. et D. G. Capone. 2000. Bacterial activity in South Pole snow. Applied and Environmental Microbiology, vol. 66, p. 4514-4517.
- CARPENTER, L. J., Hopkins, J. R., Jones, C. E., Lewis, A. C., Parthipan, R., Wevill, D. J., Poissant, L., Pilote, M. et P. Constant. 2005. Abiotic source of reactive organic halogens in the Sub-Arctic atmosphere? Environmental Science and Technology, vol. 39, p. 8812-8816.

- CAVENDISH, H. 1766. Three papers, containing experiments on factitious air. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, vol. 56, p. 141-184.
- CELO, V., Ananth, R. V., Scott, S. L. et D. R. S. Lean. 2004. Methylmercury artifact formation during solid-phase extraction of water samples using sulfhydryl cotton fiber adsorbent. Analytica Chimica Acta, vol. 516, p. 171-177.
- CHATER, K. F. 1993. Genetics of differentiation in *Streptomyces*. Annual Review of Microbiology, vol. 47, p. 685-713.
- CHATER, K. F. 2006. *Streptomyces* inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, vol. 361, p. 761-768.
- CHEN, J., Pehkonen, S. O., C.-J. Lin. 2003. Degradation of monomethylmercury chloride by hydroxyl radicals in simulated natural waters. Water Research, vol. 37, p. 2496-2504.
- CHOI, S.-C. et R. Bartha. 1993. Cobalamin-mediated mercury methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* LS. Applied and Environmental Microbiology, vol. 59, p. 290-295.
- CHOI, S.-C., Chase Jr., T. et R. Bartha. 1994. Enzymatic catalysis of mercury methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* LS. Applied and Environmental Microbiology, vol. 60, p. 1342-1346.
- CLARKSON, T. W. 2002. The three modern faces of mercury. Environmental Health Perspectives, vol. 110, p. 11-23.
- COLBEAU, A. et P. M. Vignais. 1981. The membrane-bound hydrogenase of *Rhodospseudomonas capsulata* stability and catalytic properties. Biochimica et Biophysica Acta, vol. 662, p. 271-284.
- COLMER, T. D. 2003. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots. Plant, Cell and Environment, vol. 26, p. 17-36.
- COMPEAU, G. C. et R. Bartha. 1985. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. Applied and Environmental Microbiology, vol. 50, p. 498-502.
- CONRAD, R. 1994. Compensation concentration as critical variable for regulating the

- flux of trace gases between soil and atmosphere. Biogeochemistry, vol. 27, p. 155-170.
- CONRAD, R. 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). Microbiological Reviews, vol. 60, p. 609-640.
- CONRAD, R., Aragno, M. et W. Seiler. 1983a. Production and consumption of hydrogen in a eutrophic lake. Applied and Environmental Microbiology, vol. 45, p. 502-510.
- CONRAD, R., Aragno, M. et W. Seiler. 1983b. The inability of hydrogen bacteria to utilize atmospheric hydrogen is due to threshold and affinity for hydrogen. FEMS Microbiology Letters, vol. 18, p. 207-210.
- CONRAD, R. et W. Seiler. 1979. Field measurements of hydrogen evolution by nitrogen-fixing legumes. Soil Biology and Biochemistry, vol. 11, p. 689-690.
- CONRAD, R. et W. Seiler. 1980. Contribution of hydrogen production by biological nitrogen fixation to the global hydrogen budget. Journal of Geophysical Research, vol. 85, p. 5493-5498.
- CONRAD, R. et W. Seiler. 1981. Decomposition of atmospheric hydrogen by soil microorganisms and soil enzymes. Soil Biology and Biochemistry, vol. 13, p. 43-49.
- CONRAD, R. et W. Seiler. 1985. Influence of temperature, moisture, and organic carbon on the flux of H₂ and CO between soil and atmosphere: Field studies in subtropical regions. Journal of Geophysical Research, vol. 90, p. 5699-5709.
- CONRAD, R., Weber, M. et W. Seiler. 1983c. Kinetics and electron transport of soil hydrogenases catalyzing the oxidation of atmospheric hydrogen. Soil Biology and Biochemistry, vol. 15, p. 167-173.
- CONSTANT, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2005. Impact de la variation du niveau d'eau d'un marais du lac Saint-Pierre (Québec, Canada) sur les concentrations et les flux d'hydrogène, monoxyde de carbone, méthane et dioxyde de carbone. Revue des Sciences de l'eau, vol. 18, p. 521-539.
- CONSTANT, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2008a. Annual hydrogen, carbon monoxide and carbon dioxide concentrations and surface to air exchanges in a rural area (Québec, Canada). Atmospheric Environment, vol. 42, p. 5090-5100.
- CONSTANT, P., Poissant, L. et R. Villemur. 2008b. Isolation of *Streptomyces* sp. PCB7, the first microorganism demonstrating high-affinity uptake of tropospheric H₂. International Society for Microbial Ecology Journal, sous presse,

doi:10.1038/ismej.2008.59.

- CORD-RUWISCH, R., Seitz, H.-J. et R. Conrad. 1988. The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. Archives of Microbiology, vol. 149, p. 350-357.
- CORNELISSEN, J. H. C., Callaghan T. V., Alatalo, J. M., Michelsen, A., Graglia, E., Hartley, A. E., Hik, D. S., Hobbie, S. E., Press, M. C., Robinson, C. H., Henry, G. H. R., Shaver, G. R., Phoenix, G. K., Gwynn Jones, D., Jonasson, S., Chapin III, F. S., Molau, U., Neill, C., Lee, J. A., Melillo, J. M., Sveinbjörnsson, B. et R. Aerts. 2001. Global change and arctic ecosystems: is lichen decline a function of increases in vascular plant biomass? Journal of Ecology, vol. 89, p. 984-994.
- COSTA, M. et P. Liss. 2000. Photoreduction and evolution of mercury from seawater. Science of the Total Environment, vol. 261, p. 125-135.
- CRUTZEN, P. J. et M. O. Andreae. 1990. Biomass burning in the tropics: impact on the atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. Science, vol. 250, p. 1669-1678.
- CRUTZEN, P. J., Heidt, L. E., Krasnec, J. P., Pollock, W. H. et W. Seiler. 1979. Biomass burning as a source of atmospheric gases CO, H₂, N₂O, NO, CH₃Cl and COS. Nature, vol. 282, p. 253-256.
- DAVIDSON, E. A., Belk, E. et R. D. Boone. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. Global Change Biology, vol. 4, p. 217-227.
- DAVIDSON, E. A., Savage, K., Verchot, L. V. et R. Navarro. 2002. Minimizing artifacts and biases in chamber-based measurements of soil respiration. Agricultural and Forest Meteorology, vol. 113, p. 21-37.
- DENMAN, K. L., Brasseur, G., Chidthaisong, A., Ciais, P., Cox, P. M., Dickinson, R. E., Hauglustaine, D., Heinze, C., Holland, E., Jacob, D., Lohmann, U., Ramachandran, S., da Silva Dias, P. L., Wofsy, S. C. et X. Zhang. 2007. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon S., Qin D., Manning M., Chen Z., Marquis M., Averyt K.B., Tignor M., Miller H.L. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

- DERWENT, R. G., Collins, W. J., Johnson, C. E. et D. S. Stevenson. 2001. Transient behaviour of tropospheric ozone precursors in a global 3-D CTM and their indirect greenhouse effects. Climatic Change, vol. 49, p. 463-487.
- DIETZ, R., Riget, F., Boertmann, D., Sonne, C., Olsen, M. T., Fjeldså, J., Falk, K., Kirkegaard, M., Egevang, C., Asmund, G., Wille, F. et S. Møller. 2006a. Time trends of mercury in feathers of West Greenland birds of prey during 1851-2003. Environmental Science and Technology, vol. 40, p. 5911-5916.
- DIETZ, R., Riget, F., Born, E. W., Sonne, C., Grandjean, P., Kirkegaard, M., Olsen, M. T., Asmund, G., Renzoni, A., Baagøe, H. et C. Andreassen. 2006b. Trends in mercury in hair of Greenlandic polar bears (*Ursus maritimus*) during 1892-2001. Environmental Science and Technology, vol. 40, p. 1120-1125.
- DOMINÉ, F. et P. B. Shepson. 2002. Air-snow interactions and atmospheric chemistry. Science, vol. 297, p. 1506-1510.
- DOMMERGUE, A., Ferrari, C. P., Gauchard, P.-A., Boutron, C. F., Poissant, L., Pilote, M., Jitaru, P. et F. Adams. 2003a. The fate of mercury species in a sub-arctic snowpack during snowmelt. Geophysical Research Letters, vol. 30, 1621, doi:10.1029/2003GL017308.
- DOMMERGUE, A., Ferrari, C. P., Poissant, L., Gauchard, P.-A. et C. F. Boutron. 2003b. Diurnal cycles of gaseous mercury within the snowpack at Kuujjuarapik/Whapmagoostui, Québec, Canada. Environmental Science and Technology, vol. 37, p. 3289-3297.
- DONG, Z. et D. B. Layzell. 2001. H₂ oxidation, O₂ uptake and CO₂ fixation in hydrogen treated soils. Plant and Soil, vol. 229, p. 1-12.
- DONG, Z., Wu, L., Kettlewell, B., Caldwell, C. D. et D. B. Layzell. 2003. Hydrogen fertilization of soils – is this a benefit of legume in rotation? Plant, Cell and Environment, vol. 26, p. 1875-1879.
- DOUGLAS, T. A. et M. Sturm. 2004. Arctic haze, mercury and the chemical composition of snow across northwestern Alaska. Atmospheric Environment, vol. 38, p. 805-820.
- DOUGLAS, T. A., Sturm, M., Simpson, W. R., Blum, J. D., Alvarez-Aviles, L., Keeler, G. J., Perovich, D. K., Biswas, A. et K. Johnson. 2008. Influence of snow and ice crystal formation and accumulation on mercury deposition to the Arctic. Environmental

- Science and Technology, vol. 42, p. 1542-1551.
- DOUGLAS, T. A., Sturm, M., Simpson, W. R., Brooks, S., Lindberg, S. E. et D. K. Perovich. 2005. Elevated mercury measured in snow and frost flowers near Arctic sea ice leads. Geophysical Research Letters, vol. 32, L04502, doi:10.1029/2004GL022132.
- DRAXLER, R. R. et G. D. Rolph. 2003. HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory) Model access via NOAA ARL READY Website (<http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD.
- DUNCAN, B. N., Bey, I., Chin, M., Mickley, L. J., Fairlie, T. D., Martin, R. V. et H. Matsueda. 2003. Indonesian wildfires of 1997: impact on tropospheric chemistry. Journal of Geophysical Research, vol. 108, 4458, doi:10.1029/2002JD003195.
- EBINGHAUS, R., Kock, H. H., Temme, C., Einax, J. W., Löwe A. G., Richter, A., Burrows, J. P. et W. H. Schroeder. 2002. Antarctic springtime depletion of atmospheric mercury. Environmental Science and Technology, vol. 36, p. 1238-1244.
- EDWARDS, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M. et E. C. Böttger. 1989. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. Nucleic Acids Research, vol. 17, p. 7843-7853.
- EHHALT, D. H., Davidson, J. A., Cantrell, C. A., Friedman, I. et S. Tyler. 1989. The kinetic isotope effect in the reaction of H₂ with OH. Journal of Geophysical Research, vol. 94, p. 9831-9836.
- EVANS, D. J. et C. J. Pickett. 2003. Chemistry and the hydrogenases. Chemical Society Reviews, vol. 32, p. 268-275.
- FELIP, M., Sattler, B., Psenner, R. et J. Catalan. 1995. Highly active microbial communities in the ice and snow cover of high mountain lakes. Applied and Environmental Microbiology, vol. 61, p. 2394-2401.
- FERRARI, C. P., Dommergue, A., Boutron, C. F., Jitaru, P. et F. C. Adams. 2004. Profiles of mercury in the snow pack at Station Nord, Greenland shortly after polar sunrise. Geophysical Research Letters, vol. 31, L03401, doi:10.1029/2003GL018961.
- FERRARI, C. P., Dommergue, A., Veyssere, A., Planchon, F. et C. F. Boutron. 2002. Mercury speciation in the French seasonal snow cover. Science of the Total

Environment, vol. 287, p. 61-69.

- FERRARI, C. P., Gauchard, P.-A., Aspino, K., Dommergue, A., Magand, O., Bahlmann, E., Nagorski, S., Temme, C., Ebinghaus, R., Steffen, A., Banic, C., Berg, T., Planchon, F., Barbante, C., Cescon, P. et C. F. Boutron. 2005. Snow-to-air exchanges of mercury in an Arctic seasonal snow pack in Ny-Ålesund, Svalbard. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 7633-7645.
- FITZGERALD, W. F., Engstrom, D. R., Lamborg, C. H., Tseng, C.-M., Balcom, P.H. et C. R. Hammerschmidt. 2005. Modern and historic atmospheric mercury fluxes in northern Alaska: global sources and Arctic depletion. Environmental Science and Technology, vol. 39, p. 557-568.
- FLEMING, E. J., Mack, E. E., Green, P. G. et D. C. Nelson. 2006. Mercury methylation from unexpected sources: molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium. Applied and Environmental Microbiology, vol. 72, p. 457-464.
- FOLEY, J. A., DeFries, R., Asner, G. P., Barford, C., Bonan, G., Carpenter, S. R., Chapin, F. S., Coe, M. T., Daily, G. C., Gibbs, H. K., Helkowski, J. H., Holloway, T., Howard, E. A., Kucharik, C. J., Monfreda, C., Patz, J. A., Colin Prentice, I., Ramankutty, N., et P. K. Snyder. 2005. Global consequences of land use. Science, vol. 309, p. 570-574.
- FONTECILLA-CAMPS, J. C. et S.W. Ragsdale. 1999. Nickel-iron-sulfur active sites: hydrogenase and CO dehydrogenase. Advances in Inorganic Chemistry, vol. 47, p. 283-333.
- FÖRSTEL, H. 1986. Uptake of elementary tritium by the soil. Radiation Protection Dosimetry, vol. 16, p. 75-81.
- FRIEDRICH, B., Heine, E., Finck, A. et C. G. Friedrich. 1981. Nickel requirement for active hydrogenase formation in *Alcaligenes eutrophus*. Journal of Bacteriology, vol. 145, p. 1144-1149.
- FRIEDRICH, B. et E. Schwartz. 1993. Molecular biology of hydrogen utilization in aerobic chemolithotrophs. Annual Review of Microbiology, vol. 47, p. 351-383.
- FUENTES, J. D., Lerdau, M., Atkinson, R., Baldocchi, D., Botteinheim, J. W., Ciccioli, P., Lamb, B., Geron, C., Gu, L., Guenther, A., Sharkey, T. D. et W. Stockwell. 2000. Biogenic hydrocarbons in the atmospheric boundary layer: a review. Bulletin of the

- American Meteorological Society, vol. 81, p. 1537-1575.
- GADKARI, D., Schrickler, K., Acker, G., Kroppenstedt, R. M. et O. Meyer. 1990. *Streptomyces thermoautotrophicus* sp. nov., a thermophilic CO- and H₂-oxidizing obligate chemolithoautotroph. Applied and Environmental Microbiology, vol. 56, p. 3727-3734.
- GARBARINO, J. R., Snyder-Conn, E., Leiker, T. J. et G. L. Hoffman. 2002. Contaminants in Arctic snow collected over northwest Alaskan sea ice. Water, Air, and Soil Pollution, vol. 139, p. 183-214.
- GÅRDFELDT, K., Munthe, J., Strömberg, D. et O. Lindqvist. 2003. A kinetic study on the abiotic methylation of divalent mercury in the aqueous phase. Science of the Total Environment, vol. 304, p. 127-136.
- GAUCHARD, P.-A., Aspö, K., Temme, C., Steffen, A., Ferrari, C., Berg, T., Ström, J., Kaleschke, L., Dommergue, A., Bahlmann, E., Magand, O., Planchon, F., Ebinghaus, R., Banic, C., Nagorski, S., Baussand, P. et C. Boutron. 2005a. Study of the origin of atmospheric mercury depletion events recorded in Ny-Ålesund, Svalbard, spring 2003. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 7620-7632.
- GAUCHARD, P.-A., Ferrari, C. P., Dommergue, A., Poissant, L., Pilote, M., Guehenneux, G., Boutron, C. F. et P. Baussand. 2005b. Atmospheric particle evolution during a nighttime atmospheric mercury depletion event in sub-Arctic at Kuujuaarapik/Whapmagoostui, Québec, Canada. Science of the Total Environment, vol. 336, p. 215-224.
- GERST, S. et P. Quay. 2001. Deuterium component of the global molecular hydrogen cycle. Journal of Geophysical Research, vol. 106, p. 5021-5031.
- GÖDDE, M., Meuser, K. et R. Conrad. 2000. Hydrogen consumption and carbon monoxide production in soils with different properties. Biology and Fertility of Soils, vol. 32, p. 129-134.
- GOETZ, S. J., Bunn, A. G., Fiske, G. J. et R. A. Houghton. 2005. Satellite-observed photosynthetic trends across boreal North America associated with climate and fire disturbance. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 102, p. 13521-13525.
- GOODSITE, M. E., Plane, J. M. C. et H. Skov. 2004. A theoretical study of the oxidation

- of Hg^0 to HgBr_2 in the troposphere. Environmental Science and Technology, vol. 38, p. 1772-1776.
- GÖTHBERG, A. et M. Greger. 2006. Formation of methyl mercury in an aquatic macrophyte. Chemosphere, vol. 65, p. 2096-2105.
- GRANDJEAN, P., Weihe, P., White, R. F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., Sørensen, N., Dahl, R. et P. J. Jørgensen. 1997. Cognitive deficit in 7-years old children with prenatal exposure to methylmercury. Neurotoxicology and Teratology, vol. 19, p. 417-428.
- GRANNAS, A. M., Shepson, P. B. et T. R. Filley. 2004. Photochemistry and nature of organic matter in Arctic and Antarctic snow. Global Biogeochemical Cycles, vol. 18, GB1006, doi:10.29/2003GB002133.
- GROUDIEVA, T., Kambourova, M., Yusef, H., Royter, M., Grote, R., Trinks, H. et G. Antranikian. 2004. Diversity and cold-active hydrolytic enzymes of culturable bacteria associated with Arctic sea ice, Spitzbergen. Extremophiles, vol. 8, p. 475-488.
- GUEDRON, S., Grimaldi, C., Chauvel, C., Spadini, L. et M. Grimaldi. 2006. Weathering versus atmospheric contributions to mercury concentrations in French Guiana soils. Applied Geochemistry, vol. 21, p. 2010-2022.
- GUENTHER, A., Hewitt, C. N., Erickson, D., Fall, R., Geron, C., Graedel, T., Harley, P., Klinger, L., Lerdau, M., McKay, W. A., Pierce, T., Scholes, B., Steinbrecher, R., Tallamraju, R., Taylor, J. et P. Zimmerman. 1995. A global model of natural volatile organic compound emissions. Journal of Geophysical Research, vol. 100, p. 8873-8892.
- GUO, R. et R. Conrad. 2008. Extraction and characterization of soil hydrogenases oxidizing atmospheric hydrogen. Soil Biology and Biochemistry, vol. 40, p. 1149-1154.
- GUSTIN, M. S., Engle, M., Ericksen, J., Lyman, S., Stamenkovic, J. et M. Xin. 2006. Mercury exchange between the atmosphere and low mercury containing substrates. Applied Geochemistry, vol. 21, p. 1913-1923.
- GUSTIN, M. S., Lindberg, S. E. et P. J. Weisberg. 2008. An update on the natural sources and sinks of atmospheric mercury. Applied Geochemistry, vol. 23, p. 482-493.
- GUZZI, G. P. et C. A. M. La Porta. 2008. Molecular mechanisms triggered by mercury. Toxicology, vol. 244, p. 1-12.
- HAAN, D., Zuo, Y., Gros, V. et C. A. M. Brenninkmeijer. 2001. Photochemical

- production of carbon monoxide in snow. Journal of Atmospheric Chemistry, vol. 40, p. 217-230.
- HALL, B. D., St. Louis, V. L. et R. A. D. Bodaly. 2004. The stimulation of methylmercury production by decomposition of flooded birch leaves and jack pine needles. Biogeochemistry, vol. 68, p. 107-129.
- HAMMERSCHMIDT, C. R. et W. F. Fitzgerald. 2006. Photodecomposition of methylmercury in an Arctic Alaskan lake. Environmental Science and Technology, vol. 40, p. 1212-1216.
- HAMMERSCHMIDT, C. R., Lamborg, C. H. et W. F. Fitzgerald. 2007. Aqueous phase methylation as a potential source of methylmercury in wet deposition. Atmospheric Environment, vol. 41, p. 1663-1668.
- HÄRING, V. et R. Conrad. 1991. Kinetics of H₂ oxidation in respiring and denitrifying *Paracoccus denitrificans*. FEMS Microbiology Letters, vol. 78, p. 259-264.
- HÄRING, V. et R. Conrad. 1994. Demonstration of two different H₂-oxidizing activities in soil using an H₂ consumption and a tritium exchange assay. Biology and Fertility of Soils, vol. 17, p. 125-128.
- HAUGLUSTAINE, D. A. et D. H. Ehhalt. 2002. A three-dimensional model of molecular hydrogen in the troposphere. Journal of Geophysical Research, vol. 107, 4330, doi:10.1029/2001JD001156.
- HEIMANN, A. C., Batstone, D. J. et R. Jakobsen. 2006. *Methanosarcina* spp. drive vinyl chloride dechlorination via interspecies hydrogen transfer. Applied and Environmental Microbiology, vol. 72, p. 2942-2949.
- HEIMANN, A. C., Blodau, C., Postma, D., Larsen, F., Viet, P. H., Nhan, P. Q., Jessen, S., Duc, M. T., Hue, N. T. M. et R. Jakobsen. 2007. Hydrogen thresholds and steady-state concentrations associated with microbial arsenate respiration. Environmental Science and Technology, vol. 41, p. 2311-2317.
- HERR, F. L. 1984. Dissolved hydrogen in Eurasian Arctic waters. Tellus B, vol. 36, p. 55-66.
- HERR, F. L., Frank, E. C., Leone, G. M. et M. C. Kennicutt. 1984. Diurnal variability of dissolved molecular hydrogen in the tropical South Atlantic Ocean. Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, vol. 31, p. 13-20.

- HINTELMANN, H., Harris, R., Heyes, A., Hurley, J. P., Kelly, C. A., Krabbenhoft, D. P., Lindberg, S., Rudd, J. W. M., Scott, K. J. et V. L. St. Louis. 2002. Reactivity and mobility of new and old mercury deposition in a boreal forest ecosystem during the first year of the METAALICUS study. Environmental Science and Technology, vol. 36, p. 5034-5040.
- HOBBS, G., Frazer, C. M., Gardner, D. C. J., Cullum, J. A. et S. G. Oliver. 1989. Dispersed growth of *Streptomyces* in liquid culture. Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 31, p. 272-277.
- HOEHLER, T. M., Alperin, M. J., Albert, D. B. et C. S. Martens. 1998. Thermodynamic control on hydrogen concentrations in anoxic sediments. Geochimica et Cosmochimica Acta, vol. 62, p. 1745-1756.
- HOLLOWAY, T., Levy II, H. et P. Kasibhatla. 2000. Global distribution of carbon monoxide. Journal of Geophysical Research, vol. 105, p. 12123-12147.
- HÖNNINGER, Gert. 2002. Halogen oxide studies in the boundary layer by multi axis differential optical absorption spectroscopy and active long path DOAS. Thèse de doctorat, Heidelberg, University of Heidelberg.
- HOPWOOD, D. A., Bibb, M. J., Chater, K. F., Keiser, T., Bruton, C. J., Keiser, H. M., Lydiate, D. J., Smith, C. P., Ward, J. M. et H. Schrempf. 1985. Genetic manipulation of *Streptomyces*: a laboratory manual. Norwich: The John Innes Foundation.
- HOUGHTON, R. A. 1999. The annual net flux of carbon to the atmosphere from changes in land use 1850-1990. Tellus B, vol. 51, p. 298-313.
- HUNGATE, B. A., Stiling, P. D., Dijkstra, P., Johnson, D. W., Ketterer, M. E., Hymus, G. J., Hinkle, C. R. et B. G. Drake. 2004. CO₂ elicits long-term decline in nitrogen fixation. Science, vol. 304, p. 1291.
- HURST, D. F., Dutton, G. S., Romashkin, P. A., Wamsley, P. R., Moore, F. L., Elkins, J. W., Hints, E. J., Weinstock, E. M., Herman, R. L., Moyer, E. J., Scott, D. C., May, R. D. et C. R. Webster. 1999. Closure of the total hydrogen budget of the northern extratropical lower stratosphere. Journal of Geophysical Research, vol. 104, p. 8191-8200.
- ICHIMASA, M., Ichimasa, Y. et Y. Akita. 1989a. In vivo fixation of atmospheric tritium gas in pine and Zelkova trees and their surroundings. Journal of Radiation Research,

- vol. 30, p. 330-337.
- ICHIMASA, M., Ichimasa, Y., Azuma, Y., Komuro, M., Fujita, K. et Y. Akita. 1988. Oxidation of molecular tritium by surface soils. Journal of Radiation Research, vol. 29, p. 144-151.
- ICHIMASA, M., Ichimasa, Y., Yagi, Y., Ko, R., Suzuki, M. et Y. Akita. 1989b. Oxidation of atmospheric molecular tritium in plant leaves, lichens and mosses. Journal of Radiation Research, vol. 30, p. 323-329.
- ICHIMASA, M., Suzuki, M., Obayashi, H., Sakuma, Y. et Y. Ichimasa. 1999. In vitro determination of oxidation of atmospheric tritium gas in vegetation and soil in Ibaraki and Gifu, Japan. Journal of Radiation Research, vol. 40, p. 243-251.
- IKEDA, H., Ishikawa, J., Hanamoto, A., Shinose, M, Kikuchi, H., Shiba, T., Sakaki, Y., Hattori, M. et S. Ōmura. 2003. Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. Nature Biotechnology, vol. 21, p. 526-531.
- JENSEN, S. et A. Jernelöv. 1969. Biological methylation of mercury in aquatic organisms. Nature, vol. 223, p. 753-754.
- JOEL, G., Chapin III, F. S., Chiariello, N. R., Thayer, S. S. et C. B. Field. 2001. Species-specific responses of plant communities to altered carbon and nutrient availability. Global Change Biology, vol. 7, p. 435-450.
- JUNGE, K., Eicken, H. et J. W. Deming. 2004. Bacterial activity at -2 to -20°C in Arctic wintertime sea ice. Applied and Environmental Microbiology, vol. 70, p. 550-557.
- JUNGE, K., Imhoff, F., Staley, T. et J. W. Deming. 2002. Phylogenetic diversity of numerically important Arctic sea-ice bacteria cultured at subzero temperature. Microbial Ecology, vol. 43, p. 315-328.
- KALESCHKE, L., Richter, A., Burrows, J., Afe, O., Heygster, G., Notholt, J., Rankin, A. M., Roscoe, H. K., Hollwedel, J., Wagner, T. et H.-W. Jacobi. 2004. Frost flowers on sea ice as a source of sea salt and their influence on tropospheric halogen chemistry. Geophysical Research Letters, vol. 31, L16114, doi:10.1029/2004GL020655.
- KAPLAN, J. O., Bigelow, N. H., Prentice, I. C., Harrison, S. P., Bartlein, P. J., Christensen, T. R., Cramer, W., Matveyeva, N. V., McGuire, A. D., Murray, D. F.,

- Razzhivin, V. Y., Smith, B., Walker, D. A., Anderson, P. M., Andreev, A. A., Brubaker, L. B., Edwards, M. E. et A. V. Lozhkin. 2003. Climate change and Arctic ecosystems: 2. Modeling, paleodata-model comparisons, and future projections. Journal of Geophysical Research, vol. 108, 8171, doi:10.1029/2002JD002559.
- KASSENGA, G., Pardue, J. H., Moe, W. M. et K. S. Bowman. 2004. Hydrogen thresholds as indicators of dehalorespiration in constructed treatment wetlands. Environmental Science and Technology, vol. 38, p. 1024-1030.
- KEELING, C. D. 1960. The concentration and isotopic abundance of carbon dioxide in the atmosphere. Tellus, vol. 12, p. 200-203.
- KELLY, C. A., Rudd, J. W. M., St. Louis, V. L. et A. Heyes. 1995. Is total mercury concentration a good predictor of methyl mercury concentration in aquatic systems? Water, Air, and Soil Pollution, vol. 80, p. 715-724.
- KERIN, E. J., Gilmour, C. C., Roden, E., Suzuki, M. T., Coates, J. D. et R. P. Mason. 2006. Mercury methylation by dissimilatory iron-reducing bacteria. Applied and Environmental Microbiology, vol. 72, p. 7919-7921.
- KHALIL, M. A. K. et R. A. Rasmussen. 1990a. Atmospheric carbon monoxide: latitudinal distribution of sources. Geophysical Research Letters, vol. 17, p. 1913-1916.
- KHALIL, M. A. K. et R. A. Rasmussen. 1990b. Global increase of atmospheric molecular hydrogen. Nature, vol. 347, p. 743-745.
- KORTHALS, E. T. et M. R. Winfrey. 1987. Seasonal and spatial variations in mercury methylation and demethylation in an oligotrophic lake. Applied and Environmental Microbiology, vol. 53, p. 2397-2404.
- KIM, K.-H., Ebinghaus, R., Schroeder, W. H., Blanchard, P., Kock, H. H., Steffen, A., Froude, F. A., Kim, M.-Y., Hong, S. et J.-H. Kim. 2005. Atmospheric mercury concentrations from several observatory sites in the northern hemisphere. Journal of Atmospheric Chemistry, vol. 50, p. 1-24.
- KIM, S. B., Falconer, C., Williams, E. et M. Goodfellow. 1998. *Streptomyces thermocarboxydovorans* sp. nov., and *Streptomyces thermocarboxydus* sp. nov., two moderately thermophilic carboxydotrophic species from soil. International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 48. p. 59-68.
- KING, G. M. 1999. Characteristic and significance of atmospheric carbon monoxide

- consumption by soils. Chemosphere: Global Change Science, vol. 1, p. 53-63.
- KING, G. M. 2003a. Contributions of atmospheric CO and hydrogen uptake to microbial dynamics on recent Hawaiian volcanic deposits. Applied and Environmental Microbiology, vol. 69, p. 4067-4075.
- KING, G. M. 2003b. Uptake of carbon monoxide and hydrogen at environmentally relevant concentrations by mycobacteria. Applied and Environmental Microbiology, vol. 69, p. 7266-7272.
- KING, G. M. et C. F. Weber. 2008. Interactions between bacterial carbon monoxide and hydrogen consumption and plant development on recent volcanic deposits. International Society for Microbial Ecology Journal, vol. 2, p. 195-203.
- KIRCHMANN, D. L. 2002. The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments. FEMS Microbiology Ecology, vol. 39, p. 91-100.
- KIRK, J. L., St. Louis, V. L., Hintelmann, H. et I. Lehnherr. 2006a. Potential sources of monomethyl Hg in Arctic marine ecosystems. In 8th International Conference on Mercury as a Global Pollutant (Madison, Wisconsin, August 6-11).
- KIRK, J. L., St. Louis, V. L. et M. J. Sharp. 2006b. Rapid reduction and reemission of mercury deposited into snowpacks during atmospheric mercury depletion events at Churchill, Manitoba, Canada. Environmental Science and Technology, vol. 40, p. 7590-7596.
- KLÜBER, H. D. et R. Conrad. 1993. Ferric iron-reducing *Shewanella putrefaciens* and N₂-fixing *Bradyrhizobium japonicum* with uptake hydrogenase are unable to oxidize atmospheric H₂. FEMS Microbiology Letters, vol. 111, p. 337-341.
- KRISTJANSSON, J. K., Schönheit, P. et R. K. Thauer. 1982. Different K_s values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria: an explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate. Archives of Microbiology, vol. 131, p. 278-282.
- KRUMHOLZ, L. R., Harris, S. H., Tay, S. T. et J. M. Suflita. 1999. Characterization of two subsurface H₂-utilizing bacteria, *Desulfomicrobium hypogeium* sp. nov. and *Acetobacterium psammolithicum* sp. nov., and their ecological roles. Applied and Environmental Microbiology, vol. 65, p. 2300-2306.
- KRÜMMEL, E. M., Macdonald, R. W., Kimpe, L. E., Gregory-Eaves, I., Demers, M. J.,

- Smol, J. P., Finney, B. et J. M. Blais. 2003. Aquatic Ecology: delivery of pollutants by spawning salmon. Nature, vol. 425, p. 255-256.
- LABBÉ, N., Juteau, P., Parent, S. et R. Villemur. 2003. Bacterial diversity in a marine methanol-fed denitrification reactor at the Montreal Biodome, Canada. Microbial Ecology, vol. 46, p.12-21.
- LA FAVRE, J. S. et D. D. Focht. 1983. Conservation in soil of H₂ liberated from N₂ fixation by Hup⁻ nodules. Applied and Environmental Microbiology, vol. 46, p. 304-311.
- LAHOUTIFARD, N., Poissant, L. et S. L. Scott. 2006. Scavenging of gaseous mercury by acidic snow at Kuujuarapik, Northern Québec. Science of the Total Environment, vol. 355, p. 118-126.
- LAHOUTIFARD, N., Sparling, M. et D. Lean. 2005. Total and methyl mercury patterns in Arctic snow during springtime at Resolute, Nunavut, Canada. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 7597-7606.
- LALLO, M., Aalto, T., Laurila, T. et J. Hatakka. 2008. Seasonal variations in hydrogen deposition to boreal forest soil in southern Finland. Geophysical Research Letters, vol. 35, L04402, doi:10.1029/2007GL032357.
- LALONDE, J. D., Amyot, M., Kraepiel, A. M. L. et F. M. M. Morel. 2001. Photooxidation of Hg(0) in artificial and natural waters. Environmental Science and Technology, vol. 35, p. 1367-1372.
- LALONDE, J. D., Poulain, A. J. et M. Amyot. 2002. The role of mercury redox reactions in snow on snow-to-air mercury transfer. Environmental Science and Technology, vol. 36, p. 174-178.
- LANGENFELDS, R. L., Francey, R. J., Pak, B. C., Steele, L. P., Lloyd, J., Trudinger, C. M. et C. E. Allison. 2002. Interannual growth rate variations of atmospheric CO₂ and its δ¹³C, H₂, CH₄, and CO between 1992 and 1999 linked to biomass burning. Global Biogeochemical Cycles, vol. 16, 1048, doi:10.1029/2001GB001466.
- LANTHIER, M., Juteau, P., Lépine, F., Beaudet, R. et R. Villemur. 2005. *Desulfotobacterium hafniense* is present in a high proportion within the biofilms of a high-performance pentachlorophenol-degrading, methanogenic fixed-film reactor. Applied and Environmental Microbiology, vol. 71, p. 1058-1065.

- LATURNUS, F. 2001. Marine macroalgae in polar regions as natural sources for volatile organohalogenes. Environmental Science and Pollution Research, vol. 8, p. 103-108.
- LEACH, M. R. et D. B. Zamble. 2007. Metallocenter assembly of the hydrogenase enzymes. Current Opinion in Chemical Biology, vol. 11, p. 159-165.
- LEE, Y. H. et J. Mowrer. 1989. Determination of methylmercury in natural waters at the sub-nanograms per litre level by capillary gas chromatography after adsorbent preconcentration. Analytica Chimica Acta, vol. 221, p. 259-268.
- LEE, Y. H., Wängberg, I. et J. Munthe. 2003. Sampling and analysis of gas-phase methylmercury in ambient air. Science of the total Environment, vol. 304, p. 107-113.
- LEHRER, E., Hönninger, G. et U. Platt. 2004. A one dimensional model study of the mechanism of halogen liberation and vertical transport in the polar troposphere, Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 4, p. 2427-2440.
- LEITCH, D. R., Carrie, J., Lean, D., Macdonald, R. W., Stern, G. A. et F. Wang. 2007. The delivery of mercury to the Beaufort Sea of the Arctic Ocean by the Mackenzie River. Science of the Total Environment, vol. 373, p. 178-195.
- LE TEXIER, H., Solomon, S. et R. R. Garcia. 1988. The role of molecular hydrogen and methane oxidation in the water vapour budget of the stratosphere. Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society, vol. 114, p. 281-295.
- LEUNING, R., et J. Moncrieff. 1990. Eddy-covariance CO₂ flux measurements using open- and closed-path CO₂ analysers: Corrections for analyzer water vapour sensitivity and damping of fluctuations in air sampling tubes. Boundary-Layer Meteorology, vol. 53, p. 63-76.
- LIN, C.-J. et S. O. Pehkonen. 1999. The chemistry of atmospheric mercury: a review. Atmospheric Environment, vol. 33, p. 2067-2079.
- LINDBERG, S. E., Brooks, S., Lin, C.-J., Scott, K. J., Landis, M. S., Stevens, R. K., Goodsite, M. et A. Richter. 2002. Dynamic oxidation of gaseous mercury in the Arctic troposphere at polar sunrise. Environmental Science and Technology, vol. 36, p. 1245-1256.
- LINDBERG, S. E., Brooks, S., Lin, C.-J., Scott, K., Meyers, T., Chambers, L., Landis, M. et R. Stevens. 2001. Formation of reactive gaseous mercury in the Arctic: evidence of oxidation of Hg⁰ to gas-phase Hg-II compounds after Arctic sunrise. Water, Air, and

Soil Pollution : Focus, vol. 1, p. 295-302.

LINDBERG, S., Bullock, R., Ebinghaus, R., Engstrom, D., Feng, X., Fitzgerald, W., Pirrone, N., Prestbo, E. et C. Seigneur. 2007. A synthesis of progress and uncertainties in attributing the sources of mercury in deposition. Ambio, vol. 36, p. 19-32.

LINDBERG, S. E. et T. P. Meyers. 2001. Development of an automated micrometeorological method for measuring the emission of mercury vapor from wetland vegetation. Wetland Ecology and Management, vol. 9, p. 333-347.

LINDBERG, S. E., Southworth, G., Prestbo, E. M., Wallschläger, D., Bogle, M. A. et J. Price. 2005. Gaseous methyl- and inorganic mercury in landfill gas from landfills in Florida, Minnesota, Delaware, and California. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 249-258.

LINDBERG, S. E. et W. J. Stratton. 1998. Atmospheric mercury speciation: concentrations and behavior of reactive gaseous mercury in ambient air. Environmental Science and Technology, vol. 32, p. 49-57.

LISS, P. S. et P. G. Slater. 1974. Flux of gases across the air-sea interface. Nature, vol. 247, p. 181-184.

LOCKHART, W. L., Stern, G. A., Wagemann, R., Hunt, R. V., Metner, D. A., DeLaronde, J., Dunn, B., Stewart, R. E. A., Hyatt, C. K., Harwood, L. et K. Mount. 2005. Concentrations of mercury in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from several communities in the Canadian Arctic from 1981 to 2002. Science of the Total Environment, vol. 351-352, p. 391-412.

LOCKHART, W. L., Wilkinson, P., Billeck, B. N., Danell, R. A., Hunt, R. V., Brunskill, G. J., Delaronde, J. et V. St. Louis. 1998. Fluxes of mercury to lake sediments in central and northern Canada inferred from dated sediment cores. Biogeochemistry, vol. 40, p. 163-173.

LÖFFLER, F. E., Tiedje, J. M. et R. A. Sanford. 1999. Fraction of electrons consumed in electron acceptor reduction and hydrogen thresholds as indicators of halo-respiratory physiology. Applied and Environmental Microbiology, vol. 65, p. 4049-4056.

LOSETO, L. L., Lean, D. R. S. et S. D. Siciliano. 2004a. Snowmelt sources of methylmercury to high Arctic Ecosystems. Environmental Science and Technology, vol. 38, p. 3004-3010.

- LOSETO, L. L., Siciliano, S. D. et D. R. S. Lean. 2004b. Methylmercury production in high Arctic wetlands. Environmental Toxicology and Chemistry, vol. 23, p. 17-23.
- LOVLEY, D. R. 1985. Minimum threshold for hydrogen metabolism in methanogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology, vol. 49, p. 1530-1531.
- LOVLEY, D. R., Chapelle, F. H. et J. C. Woodward. 1994. Use of dissolved H₂ concentrations to determine distribution of microbially catalyzed redox reactions in anoxic groundwater. Environmental Science and Technology, vol. 28, p. 1205-1210.
- LOVLEY, D. R. et S. Goodwin. 1988. Hydrogen concentrations as an indicator of the predominant terminal electron-accepting reactions in aquatic sediments. Geochimica et Cosmochimica Acta, vol. 52, p. 2993-3003.
- LOVLEY, D. R., Phillips, E. J. P. et D. J. Lonergan. 1989. Hydrogen and formate oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese by *Alteromonas putrefaciens*. Applied and Environmental Microbiology, vol. 55, p. 700-706.
- LU, J. Y., Schroeder, W. H., Barrie, L. A., Steffen, A., Welch, H. E., Martin, K., Lockhart, L., Hunt, R. V., Boila, G. et A. Richter. 2001. Magnification of atmospheric mercury deposition to polar regions in springtime: the link to tropospheric ozone depletion chemistry. Geophysical Research Letters, vol. 28, p. 3219-3222.
- LUIJTEN, M. L. G. C., Roelofsen, W., Langenhoff, A. A. M., Schraa, G. et A. J. M. Stams. 2004. Hydrogen threshold concentrations in pure cultures of halorespiring bacteria and at a site polluted with chlorinated ethenes. Environmental Microbiology, vol. 6, p. 646-650.
- MACDONALD, R. W., Barrie, L. A., Bidleman, T. F., Diamond, M. L., Gregor, D. J., Semkin, R. G., Strachan, W. M. J., Li, Y. F., Wania, F., Alae, M., Alexeeva, L. B., Backus, S. M., Bailey, R., Bowers, J. M., Gobeil, C., Halsall, C. J., Harner, T., Hoff, J. T., Jantunen, L. M. M., Lockhart, W. L., Mackay, D., Muir, D. C. G., Pudykiewicz, J., Reimer, K. J., Smith, J. N., Stern, G. A., Schroeder, W. H., Wagemann, R. et M. B. Yunker. 2000. Contaminants in the Canadian Arctic: 5 years of progress in understanding sources, occurrence and pathways. Science of the Total Environment, vol. 254, p. 93-234.
- MACDONALD, R. W., Harner, T. et J. Fyfe. 2005. Recent climate change in the Arctic and its impact on contaminant pathways and interpretation of temporal trend

- data. Science of the Total Environment, vol. 342, p. 5-86.
- MAIMAITI, J., Zhang, Y., Yang, J., Cen, Y.-P., Layzell, D. B., Peoples, M. et Z. Dong. 2007. Isolation and characterization of hydrogen-oxidizing bacteria induced following exposure of soil to hydrogen gas and their impact on plant growth. Environmental Microbiology, vol. 9, p. 435-444.
- MALM, O. 1998. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. Environmental Research, vol. 77, p. 73-78.
- MAR, K. A., McCarthy, M. C., Connell, P. et K. A. Boering. 2007. Modeling the photochemical origins of the extreme deuterium enrichment in stratospheric H₂. Journal of Geophysical Research, vol. 112, D19302, doi:10.1029/2006JD007403.
- MARBÁN, G. et T. Valdés-Solis. 2007. Towards the hydrogen economy? International Journal of Hydrogen Energy, vol. 32, p. 1625-1637.
- MARSH, T. L. et M. J. McInerney. 2001. Relationship of hydrogen bioavailability to chromate reduction in aquifer sediments. Applied and Environmental Microbiology, vol. 67, p. 1517-1521.
- MARVIN-DIPASQUALE, M., Agee, J., McGowan, C., Oremland, R. S., Thomas, M., Krabbenhoft, D. et C. C. Gilmour. 2000. Methyl-mercury degradation pathways: a comparison among three mercury-impacted ecosystems. Environmental Science and Technology, vol. 34, p. 4908-4916.
- MASON, R. P., Rolffhus, K. R. et W. F. Fitzgerald. 1998. Mercury in the North Atlantic. Marine Chemistry, vol. 61, p. 37-53.
- MCDOWALL, W. et M. Eames. 2007. Towards a sustainable hydrogen economy: a multi-criteria sustainability appraisal of competing hydrogen futures. International Journal of Hydrogen Economy, vol. 32, 4611-4626.
- MCFARLANE, J. C. 1978. Tritium accumulation in lettuce fumigated with elemental tritium. Environmental and Experimental Botany, vol. 18, p. 131-137.
- MCFARLANE, J. C., Rogers, R. D. et D. V. Bradley Jr. 1978. Environmental tritium oxidation in surface soil. Environmental Science and Technology, vol. 12, p. 590-593.
- MCKNIGHT, D. M., Smith, R. L., Harnish, R. A., Miller, C. L. et K. E. Bencala. 1993. Seasonal relationships between planktonic microorganisms and dissolved organic material in an alpine stream. Biogeochemistry, vol. 21, p. 39-59.

- MILLBANK, J. W. 1982. Nitrogenase and hydrogenase in cyanophilic lichens. New Phytologist, vol. 92, p. 221-228.
- MISKIMMIN, B. M., Rudd J. W. M. et C. A. Kelly. 1992. Influence of dissolved organic carbon, pH, and microbial respiration rates on mercury methylation and demethylation in lake water. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, vol. 49, p. 17-22.
- MONKS, P. S. 2005. Gas-phase radical chemistry in the troposphere. Chemical Society Reviews, vol. 34, p. 376-395.
- MONSON, R. K. et E. A. Holland. 2001. Biospheric trace gas fluxes and their control over tropospheric chemistry. Annual Review of Ecology and Systematics, vol. 32, p. 547-576.
- MONSON, R. K., Lipson, D. L., Burns, S. P., Turnipseed, A. A., Delany, A. C., Williams, M. W., et S. K. Schmidt. 2006. Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. Nature, vol. 439, p. 711-714.
- MOORE, T. R. et M. Dalva. 1993. The influence of temperature and water table position on carbon dioxide and methane emissions from laboratory columns of peatland soils. Journal of Soil Science, vol. 44, p. 651-664.
- MOREL, F. M. M., Kraepiel, A. M. L. et M. Amyot. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. Annual Review of Ecology and Systematics, vol. 29, p. 543-566.
- MORITA, R. Y. 2000. Is H₂ the universal energy source for long-term survival? Microbial Ecology, vol. 38, p. 307-320.
- MOROZOV, S. V., Voronin, O. G., Karyakina, E. E., Zorin, N. A., Cosnier, S. et A. A. Karyakin. 2006. Tolerance to oxygen of hydrogen enzyme electrodes. Electrochemistry Communications, vol. 8, p. 851-854.
- MOXLEY, J. M. et K. A. Smith. 1998a. Carbon monoxide production and emission by some Scottish soils. Tellus B, vol. 50, p. 151-162.
- MOXLEY, J. M. et K. A. Smith. 1998b. Factors affecting utilization of atmospheric CO by soils. Soil Biology and Biochemistry, vol. 30, p. 65-79.
- MOZURKEWICH, M. 1995. Mechanisms for the release of halogens from the sea salt particles by free radical reactions. Journal of Geophysical Research, vol. 100, p. 14199-14207.

- MUCKLE, G., Ayotte, P., Dewailly, E., Jacobson, S. W. et J. L. Jacobson. 2001. Prenatal exposure of the northern Québec Inuit infants to environmental contaminants. Environmental Health Perspectives, vol. 109, p. 1291-1299.
- MÜLLER, C., Eickhout, B., Zaehle, S., Bondeau, A., Cramer, W. et W. Lucht. 2007. Effects of changes in CO₂, climate, and land use on the carbon balance of the land biosphere during the 21st century. Journal of Geophysical Research, vol. 112, G02032, doi:10.1029/2006JG000388.
- MÜLLER, H., Kramm, G., Meixner, F., Dollard, G. J. et D. Fowler. 1993. Determination of HNO₃ dry deposition by modified Bowen ratio and aerodynamic profile technique. Tellus B, vol. 45, p. 346-367.
- MÜLLER, J.-F. 1992. Geographical distribution and seasonal variation of surface emissions and deposition velocities of atmospheric trace gases. Journal of Geophysical Research, vol. 97, p. 3787-3804.
- MUNTHE, J., Hultberg, H. et Å . Iverfeldt. 1995. Mechanisms of deposition of methylmercury and mercury to coniferous forests. Water, Air, and Soil Pollution, vol. 80, p. 363-371.
- MUYZER, G., De Waal, E. C. et A. G. Uitterlinden. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, vol. 59, p. 695-700.
- NARITA, D., Pochanart, P., Matsumoto, J., Someno, K., Tanimoto, H., Hirokawa, J., Kajii, Y., Akimoto, H., Nakao, M., Katsuno, T. et Y. Kinjo. 1999. Seasonal variation of carbon monoxide at remote sites in Japan. Chemosphere: Global Change Science, vol. 1, p. 137-144.
- NOVELLI, P. C., Lang, P. M., Masarie, K. A., Hurst, D. F., Myers, R. et J. W. Elkins. 1999. Molecular hydrogen in the troposphere: Global distribution and budget. Journal of Geophysical Research, vol. 104, p. 30427-30444.
- NOVELLI, P. C., Masarie, K. A. et P. M. Lang. 1998. Distributions and recent changes of carbon monoxide in the lower troposphere. Journal of Geophysical Research, vol. 103, p. 19015-19034.
- NRIAGU, J. O. 1989. A global assessment of natural sources of atmospheric trace

- metals. Nature, vol. 338, p. 47-49.
- OGDEN, J.M. 1999. Prospects for building a hydrogen energy infrastructure. Annual Review of Energy and the Environment, vol. 24, p. 227-279.
- OGO, S., Kure, B., Nakai, H, Watanabe, Y. et S. Fukuzumi. 2004. Why do nitrogenases waste electrons by evolving dihydrogen? Applied Organometallic Chemistry, vol. 18, p. 589-594.
- OHMURA, A. 1982. Objective criteria for rejecting data for bowen ratio flux calculations. Journal of Applied Meteorology, vol. 21, p. 595-598.
- OLAH, G. A., Goepfert, A. et G. K. S. Prakash. 2006. Beyond oil and gas: the methanol economy. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 290 p.
- OREMLAND, R. S., Culbertson, C. W. et M. R. Winfrey. 1991. Methylmercury decomposition in sediments and bacterial cultures: involvement of methanogens and sulfate reducers in oxidative demethylation. Applied and Environmental Microbiology, vol. 57, p. 130-137.
- OSBORN, A. M., Bruce, K. D., Strike, P. et D. A. Ritchie. 1997. Distribution, diversity and evolution of the bacterial mercury resistance (*mer*) operon. FEMS Microbiology Reviews, vol. 19, p. 239-262.
- OUTRIDGE, P. M., Hobson, K. A., McNeely, R. et A. Dyke. 2002. A comparison of modern and preindustrial levels of mercury in the teeth of beluga in the Mackenzie Delta, Northwest Territories, and walrus at Igloodik, Nunavut, Canada. Arctic, vol. 55, p. 123-132.
- OUTRIDGE, P. M., Macdonald, R. W., Wang, F., Stern, G. A. et A. P. Dastoor. 2008. A mass balance inventory of mercury in the Arctic Ocean. Environmental Chemistry, vol. 5, p. 89-111.
- OUTRIDGE, P. M., Sanei, H., Stern, G. A., Hamilton, P. B. et F. Goodarzi. 2007. Evidence for control of mercury accumulation rates in Canadian High Arctic lake sediments by variations of aquatic primary productivity. Environmental Science and Technology, vol. 41, p. 5259-5265.
- PACYNA, E. G., Pacyna, J. M., Steenhuissen, F. et S. Wilson. 2006. Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. Atmospheric Environment, vol. 40, p. 4048-4063.

- PAERL, Hans W. 1998. Microbially mediated nitrogen cycling. In R. S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey et G. Sayler, (éd.). *Techniques in Microbial Ecology*. New York, NY, Oxford University Press, 1998. p. 3-30.
- PAK, K.-R. et R. Bartha. 1998. Mercury methylation and demethylation in anoxic lake sediments and by strictly anaerobic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, p. 1013-1017.
- PAN, D., Domon, G., de Blois, S. et A. Bouchard. 1999. Temporal (1958-1993) and spatial patterns of land use changes in Haut-Saint-Laurent (Quebec, Canada) and their relation to landscape physical attributes. *Landscape Ecology*, vol. 14, p. 35-52.
- PANETH, F. A. 1937. The chemical composition of the atmosphere. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, vol. 63, p. 433-443.
- PEREZ, P. J., Castellvi, F., Ibañez, M. et J. I. Rosell. 1999. Assessment of reliability of Bowen ratio method for partitioning fluxes. *Agricultural and Forest Meteorology*, vol. 97, p. 141-150.
- PIAO, S., Friedlingstein, P., Ciais, P., Zhou, L. et A. Chen. 2006. Effect of climate and CO₂ changes on the greening of the Northern Hemisphere over the past two decades. *Geophysical Research Letters*, vol. 33, L23402, doi:10.1029/2006GL028205.
- POISSANT, L. 1997. Field observations of total gaseous mercury behaviour: interactions with ozone concentration and water vapour mixing ratio in air at a rural site. *Water, Air, and Soil Pollution*, vol. 97, p. 341-353.
- POISSANT, L. 1999. Potential sources of atmospheric total gaseous mercury in the St. Lawrence River valley. *Atmospheric Environment*, vol. 33, p. 2537-2547.
- POISSANT, L. 2001. Atmospheric mercury transport, oxidation and fallout in northern Québec (Nunavik): an important potential route of contamination. Northern Contaminants Program, synopsis of research 1999-2000. Montréal, Canada, Indian and Northern Affairs Canada, 0-662-29320-7, p. 132-136.
- POISSANT, L., Amyot, M., Pilote, M. et D. Lean. 2000. Mercury water-air exchange over the upper St. Lawrence River and Lake Ontario. *Environmental Science and Technology*, vol. 34, p. 3069-3078.
- POISSANT, L. et A. Casimir. 1998. Water-air and soil-air exchange rate of total gaseous mercury measured at background sites. *Atmospheric Environment*, vol. 32, p. 883-893.

- POISSANT, L., Constant, P., Pilote, M., Canário, J., O'Driscoll, N., Ridal, J. et D. Lean. 2007. The ebullition of hydrogen, carbon monoxide, methane, carbon dioxide and total gaseous mercury from the Cornwall Area of Concern. Science of the Total Environment, vol. 381, p. 256-262.
- POISSANT, L., Dommergue, A. et C. P. Ferrari. 2002. Mercury as a global pollutant. Journal de Physique (IV), vol. 12, p. 143-160.
- POISSANT, L. et G. Hönninger. 2004. Atmospheric Mercury & Ozone Depletion Events Observed at the Hudson Bay in Northern Québec Along To BrO (DOAS) Measurements. RMZ – Materials and Geoenvironment, vol. 51, p. 1722-1725.
- POISSANT, L. et M. Pilote. 2003. Time series analysis of atmospheric mercury in Kuujuarapik/Whapmagoostui (Québec). Journal de Physique IV, vol. 107, p. 1079-1082.
- POISSANT, L., Pilote, M., Beauvais, C., Constant, P. et H. H. Zhang. 2005. A year of continuous measurements of three atmospheric mercury species (GEM, RGM and Hg_p) in southern Québec, Canada. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 1275-1287.
- POISSANT, L., Pilote, M. et A. Casimir. 1999. Mercury flux measurements in a naturally enriched area: correlation with environmental conditions during the Nevada Study and Tests of the Release of Mercury from Soils (STORMS). Journal of Geophysical Research, vol. 104, p. 21845-21857.
- POISSANT, L., Pilote, M., Xu, X., Zhang, H. et C. Beauvais. 2004. Atmospheric mercury speciation and deposition in the Bay St. François wetlands. Journal of Geophysical Research, vol. 109, D11301, doi:10.1029/2003JD004364.
- POISSANT, L., Pilote, M., Yumvihoze, E. et D. Lean. 2008. Mercury concentrations and foliage/atmosphere fluxes in a maple forest ecosystem in Québec, Canada, Journal of Geophysical Research, sous presse.
- PONGRATZ, R. et K. G. Heumann. 1998. Production of methylated mercury and lead by polar macroalgae – a significant natural source for atmospheric heavy metals in clean room compartments. Chemosphere, vol. 36, p. 1935-1946.
- POULAIN, A. J., Ni Chadhain, S. M., Ariya, P. A., Amyot, M., Garcia, E., Campbell, P. G. C., Zylstra, G. J. et T. Barkay. 2007a. Potential for mercury reduction by microbes in the high Arctic. Applied and Environmental Microbiology, vol. 73, p. 2230-2238.

- POULAIN, A. J., Roy, V. et M. Amyot. 2007b. Influence of temperate mixed and deciduous tree covers on Hg concentrations and photoredox transformations in snow. Geochimica et Cosmochimica Acta, vol. 71, p. 2448-2462.
- PRICE, H., Jaeglé, L., Rice, A., Quay, P., Novelli, P. C. et R. Gammon. 2007. Global budget of molecular hydrogen and its deuterium content: constraints from ground station, cruise, and aircraft observations. Journal of Geophysical Research, vol. 112, D22108, doi:10.1029/2006JD008152.
- PRISCU, J. C., Fritsen, C. H., Adams, E. E., Giovannoni, S. J., Paerl, H. W., McKay, C. P., Doran, P. T., Gordon, D. A., Lanoil, B. D. et J. L. Pinckney. 1998. Perennial Antarctic lake ice: an oasis for life in a polar desert. Science, vol. 280, p. 2095-2098.
- PUNSHON, S., Moore, R. M. et H. Xie. 2007. Net loss rates and distribution of molecular hydrogen (H₂) in mid-latitude coastal waters. Marine Chemistry, vol. 105, p. 129-139.
- PYLE, D. M. et T. A. Mather. 2003. The importance of volcanic emissions for the global atmospheric mercury cycle. Atmospheric Environment, vol. 37, p. 5115-5124.
- QUÉMERAIS, B. et D. Cossa. 1997. Procedures for sampling and analysis of mercury in natural waters. Environment Canada-Québec region, Environmental Conservation, St. Lawrence Center, Scientific and Technical Report ST-31E, 34 pages.
- RAHN, T., Eiler, J. M., Boering, K. A., Wennberg, P. O., McCarthy, M. C., Tyler, S., Schauffler, S., Donnelly, S. et E. Atlas. 2003. Extreme deuterium enrichment in stratospheric hydrogen and the global atmospheric budget of H₂. Nature, vol. 424, p. 918-921.
- RAHN, T., Eiler, J. M., Kitchen, N., Fessenden, J. E. et J. T. Randerson. 2002a. Concentration and δD of molecular hydrogen in boreal forests: ecosystem-scale systematics of atmospheric H₂. Geophysical Research Letters, vol. 29, 1888, doi:10.1029/2002GL015118.
- RAHN, T., Kitchen, N. et J. M. Eiler. 2002b. D/H ratios of atmospheric H₂ in urban air: results using new methods for analysis of nano-molar H₂ samples. Geochimica Cosmochimica Acta, vol. 66, p. 2475-2481.
- RALSTON, D. M. et T. V. O'Halloran. 1990. Ultrasensitivity and heavy-metal selectivity of the allosterically modulated MerR transcription complex. Proceedings of the

- National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 87, p. 3846-3850.
- RAMACHANDRAN, R. et R. K. Menon. 1998. An overview of industrial uses of hydrogen. International Journal of Hydrogen Energy, vol. 23, p. 593-598.
- RAOFIE, F. et P. A. Ariya. 2004. Product study of the gas-phase BrO-initiated oxidation of Hg⁰: evidence for stable Hg¹⁺ compounds. Environmental Science and Technology, vol. 38, p. 4319-4326.
- RAVISHANKARA, A. R. 1988. Kinetics of radical reactions in the atmospheric oxidation of CH₄. Annual Review of Physical Chemistry, vol. 39, p. 367-394.
- RHEE, T. S., Brenninkmeijer, C. A. M., Braß, M. et C. Brühl. 2006a. Isotopic composition of H₂ from CH₄ oxidation in the stratosphere and the troposphere. Journal of Geophysical Research, vol. 111, D23303, doi:10.1029/2005JD006760.
- RHEE, T. S., Brenninkmeijer, C. A. M. et T. Röckmann. 2006b. The overwhelming role of soils in the global atmospheric hydrogen cycle. Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 6, p. 1611-1625.
- RILEY, J. P. et G. Skirrow. 1975. Chemical oceanography. London: Academic Press Inc., 564 p.
- RIZZO, B. et E. Wiken. 1992. Assessing the sensitivity of Canada's ecosystems to climatic change. Climatic Change, vol. 21, p. 37-55.
- ROBINSON, J. A. et J. M. Tiedje. 1982. Kinetics of hydrogen consumption by rumen fluid, anaerobic digester sludge, and sediment. Applied and Environmental Microbiology, vol. 44, p. 1374-1384.
- ROBINSON, J. A. et J. M. Tiedje. 1984. Competition between sulphate-reducing and methanogenic bacteria for H₂ under resting and growing conditions. Archives of Microbiology, vol. 137, p. 26-32.
- RÖCKMANN, T., Rhee, T. S. et A. Engel. 2003. Heavy hydrogen in the stratosphere. Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 3, p. 2015-2023.
- RODRÍGUEZ MARTÍN-DOIMEADIOS, R. C., Tessier, E., Amouroux, D., Guyoneaud, R., Duran, R., Caumette, P. et O. F. X. Donard. 2004. Mercury methylation/demethylation and volatilization pathways in estuarine sediment slurries using species-specific enriched stable isotopes. Marine Chemistry, vol. 90, p.107-123.
- ROLPH, G. D. 2003. Real-time Environmental Applications and Display sYstem

- (READY) Website (<http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD.
- RUDD, J. W. M. 1995. Sources of methylmercury to freshwater ecosystems: a review. Water, Air, and Soil Pollution, vol. 80, p. 697-713.
- SAINT-AMOUR, D., Roy, M.-S., Bastien, C., Ayotte, P., Dewailly, E., Després, C., Gingras, S. et G. Muckle. 2006. Alterations of visual evoked potentials in preschool Inuit children exposed to methylmercury and polychlorinated biphenyls from a marine diet. Neurotoxicology, vol. 27, p. 567-578.
- SAMBROOK, J. et D. W. Russell. 1989. Molecular Cloning: a Laboratory Manual. Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. USA.
- SANDERSON, M. G., Collins, W. J., Derwent, R. G. et C. E. Johnson. 2003. Simulation of global hydrogen levels using a Lagrangian three-dimensional model. Journal of Atmospheric Chemistry, vol. 46, p. 15-28.
- SANHUEZA, E., Dong, Y., Scharffe, D., Lobert, J. M. et P. J. Crutzen. 1998. Carbon monoxide uptake by temperate forest soils: the effects of leaves and humus layers. Tellus B, vol. 50, p. 51-58.
- SAWA, Y., Matsueda, H., Tsutsumi, Y., Jensen, J. B., Inoue, H. Y. et Y. Makino. 1999. Tropospheric carbon monoxide and hydrogen measurements over Kalimantan in Indonesia and northern Australia during October 1997. Geophysical Research Letters, vol. 26, p. 1389-1392.
- SCHMIDT, U. 1974. Molecular hydrogen in the atmosphere. Tellus, vol. 26, p. 78-90.
- SCHMIDT, U. et R. Conrad. 1993. Hydrogen, carbon monoxide, and methane dynamics in Lake Constance. Limnology and Oceanography, vol. 38, p. 1214-1226.
- SCHNACKENBERG, J., Schulz, R. et H. Senger. 1993. Characterization and purification of a hydrogenase from the eukaryotic green alga *Scenedesmus obliquus*. FEBS Letters, vol. 327, p. 21-24.
- SCHROEDER, W. H., Anlauf, K. G., Barrie, L. A., Lu, J. Y., Steffen, A., Schneeberger, D. R. et T. Berg. 1998. Arctic springtime depletion of mercury. Nature, vol. 394, p. 331-332.
- SCHROPP, S. J., Scranton, M. I. et J. R. Schwarz. 1987. Dissolved hydrogen, facultatively anaerobic, hydrogen-producing bacteria, and potential hydrogen

- production rates in the western North Atlantic Ocean and Gulf of Mexico. Limnology and Oceanography, vol. 32, p. 396-402.
- SCHUBERT, K. R. et H. J. Evans. 1976. Hydrogen evolution: a major factor affecting the efficiency of nitrogen fixation in nodulated symbionts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 73, p. 1207-1211.
- SCHULER, S. et R. Conrad. 1990. Soils contain two different activities for oxidation of hydrogen. FEMS Microbiology Letters, vol. 73, p. 77-84.
- SCHULER, S. et R. Conrad. 1991. Hydrogen oxidation activities in soil as influenced by pH, temperature, moisture, and season. Biology and Fertility of Soils, vol. 12, p. 127-130.
- SCHULTZ, M. G., Diehl, T., Brasseur, G. P. et W. Zittel. 2003. Air pollution and climate-forcing impacts of a global hydrogen economy. Science, vol. 302, p. 624-627.
- SCHÜTZ, H., Conrad, R., Goodwin, S. et W. Seiler. 1988. Emission of hydrogen from deep and shallow freshwater environments. Biogeochemistry, vol. 5, p. 295-311.
- SCOTT, K. J. 2001. Bioavailable mercury in Arctic snow determined by a light-emitting *mer-lux* bioreporter. Arctic, vol. 54, p. 92-101.
- SCRANTON, M. I. 1984. Hydrogen cycling in the waters near Bermuda: the role of the nitrogen fixer, *Oscillatoria thiebautii*. Deep-Sea Research, vol. 31, p. 133-143.
- SCRANTON, M. I., Barger, W. R. et F. L. Herr. 1984a. Molecular hydrogen in the urban troposphere: measurements of seasonal variability. Journal of Geophysical Research, vol. 85, p. 5575-5580.
- SCRANTON, M. I., Jones, M. M. et F. L. Herr. 1982. Distribution and variability of dissolved hydrogen in the Mediterranean Sea. Journal of Marine Research, vol. 40, p. 873-891.
- SCRANTON, M. I., Novelli, P. C. et P. A. Loud. 1984b. The distribution and cycling of hydrogen gas in the waters of two anoxic marine environments. Limnology and Oceanography, vol. 29, p. 993-1003.
- SEGAWA, T., Miyamoto, K., Ushida, K., Agata, K., Okada, N. et S. Kohshima. 2005. Seasonal change in bacterial flora and biomass in mountain snow from the Tateyama Mountains, Japan, analyzed by 16S rRNA gene sequencing and real-time PCR. Applied and Environmental Microbiology, vol. 71, p. 123-130.

- SEIGNEUR, C., Vijayaraghavan, K. et K. Lohman. 2006. Atmospheric mercury chemistry: Sensitivity of global model simulations to chemical reactions. Journal of Geophysical Research, vol. 111, D22306, doi:10.1029/2005JD006780.
- SEINFELD, J. H. et S. N. Pandis. 1998. Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1326 p.
- SELIFONOVA, O., Burlage, R. et T. Barkay. 1993. Bioluminescent sensors for detection of bioavailable Hg(II) in the environment. Applied and Environmental Microbiology, vol. 59, p. 3083-3090.
- SELLERS, P., Kelly, C. A., Rudd, J. W. M. et A. R. MacHutchon. 1996. Photodegradation of methylmercury in lakes. Nature, vol. 380, p. 694-697.
- SHIMA, S. et R. K. Thauer. 2007. A third type of hydrogenase catalyzing H₂ activation. The Chemical Record, vol. 7, p. 37-46.
- SICILIANO, S. D., O'Driscoll, N. J. et D. R. S. Lean. 2002. Microbial reduction and oxidation of mercury in freshwater lakes. Environmental Science and Technology, vol. 36, p. 3064-3068.
- SICILIANO, S. D., O'Driscoll, N. J., Tordon, R., Hill, J., Beauchamp, S. et D. R. S. Lean. 2005. Abiotic production of methylmercury by solar radiation. Environmental Science and Technology, vol. 39, p. 1071-1077.
- SIMMONDS, P. G., Derwent, R. G., O'Doherty, S., Ryall, D. B., Steele, L. P., Langenfelds, R. L., Salameh, P., Wang, H. J., Dimmer, C. H. et L. E. Hudson. 2000. Continuous high-frequency observations of hydrogen at the Mace Head baseline atmospheric monitoring station over the 1994-1998 period. Journal of Geophysical Research, vol. 105, p. 12105-12121.
- SKOV, H., Christensen, J. H., Goodsite, M. E., Heidam, N. Z., Jensen, B., Wåhlin, P. et G. Geernaert. 2004. Fate of elemental mercury in the Arctic during atmospheric mercury depletion episodes and the load of atmospheric mercury to the Arctic. Environmental Science and Technology, vol. 38, p. 2373-2382.
- SLEMR, F., Brunke, E.-G., Ebinghaus, R., Temme, C., Munthe, J., Wängberg, I., Schroeder, W., Steffen, A. et T. Berg. 2003. Worldwide trend of atmospheric mercury since 1977. Geophysical Research Letters, vol. 30, 1516, doi:10.1029/2003GL016954.
- SMATLAK, C. R., Gossett, J. M. et S. H. Zinder. 1996. Comparative kinetics of

- hydrogen utilization for reductive dechlorination of tetrachloroethene and methanogenesis in an anaerobic enrichment culture. Environmental Science and Technology, vol. 30, p. 2850-2858.
- SMITH-DOWNEY, N. V., Randerson, J. T. et J. M. Eiler. 2006. Temperature and moisture dependence of soil H₂ uptake measured in the laboratory. Geophysical Research Letters, vol. 33, L14813, doi:10.1029/2006GL026749.
- SOLOMON, S., Qin, D., Manning, M., Alley, R. B., Berntsen, T., Bindoff, N. L., Chen, Z., Chidthaisong, A., Gregory, J. M., Hegerl, G. C., Heimann, M., Hewitson, B., Hoskins, B. J., Joos, F., Jouzel, J., Kattsov, V., Lohmann, U., Matsuno, T., Molina, M., Nicholls, N., Overpeck, J., Raga, G., Ramaswamy, V., Ren, J., Rusticucci, M., Somerville, R., Stocker T. F., Whetton, P., Wood, R. A. et D. Wratt. 2007. In S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K. B. Averyt, M. Tignor, et H. L. Miller, (éd.). *Climate Change 2007: The physical Science Basis. Contribution of working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. New York, NY: Cambridge University Press, 2007. p. 1-74.
- SOMMAR, J., Hallquist, M. et E. Ljungström. 1996. Rate of reaction between the nitrate radical and dimethyl mercury in the gas phase. Chemical Physics Letters, vol. 257, p. 434-438.
- SOMMAR, J., Hallquist, M., Ljungström, E. et O. Lindqvist. 1997. On the gas phase reactions between volatile biogenic mercury species and the nitrate radical. Journal of Atmospheric Chemistry, vol. 27, p. 233-247.
- SPICER, C. W., Plastridge, R. A., Foster, K. L., Finlayson-Pitts, B. J., Bottenheim, J. W., Grannas, A. M. et P. B. Shepson. 2002. Molecular halogens before and during ozone depletion events in the Arctic at polar sunrise: concentrations and sources. Atmospheric Environment, vol. 36, p. 2721-2731.
- STEFFEN, A., Schroeder, W., Bottenheim, J., Narayan, J. et J. D. Fuentes. 2002. Atmospheric mercury concentrations: measurements and profiles near snow and ice surfaces in the Canadian Arctic during Alert 2000. Atmospheric Environment, vol. 36, p. 2653-2661.
- STEFFEN, A., Schroeder, W., Macdonald, R., Poissant, L. et A. Konoplev. 2005. Mercury in the Arctic atmosphere: An analysis of eight years of measurements of GEM

- at Alert (Canada) and a comparison with observations at Amderma (Russia) and Kuujuarapik (Canada). Science of the Total Environment, vol. 342, p. 185-198.
- STEIN, S., Selesi, D., Schilling, R., Pattis, I., Schmid, M. et A. Hartmann. 2005. Microbial activity and bacterial composition of H₂-treated soils with net CO₂ fixation. Soil Biology and Biochemistry, vol. 37, p. 1938-1945.
- STEINBACHER, M., Fischer, A., Vollmer, M. K., Buchmann, B., Reimann, S. et C. Hueglin. 2007. Perennial observations of molecular hydrogen (H₂) at a suburban site in Switzerland. Atmospheric Environment, vol. 41, p. 2111-2124.
- STEPHENSON, M. et L. H. Stickland. 1931. Hydrogenase: a bacterial enzyme activating molecular hydrogen I. The properties of the enzyme. Biochemical Journal, vol. 25, p. 205-214.
- ST. LOUIS, V. L., Hintelmann, H., Graydon, J. A., Kirk, J. L., Barker, J., Dimock, B., Sharp, M. J. et I. Lehnherr. 2007. Methylated mercury species in Canadian high Arctic marine surface waters and snowpacks. Environmental Science and Technology, vol. 41, p. 6433-6441.
- ST. LOUIS, V. L., Sharp, M. J., Steffen, A., May, A., Barker, J., Kirk, J. L., Kelly, D. J. A., Arnott, S. E., Keatley, B. et J. P. Smol. 2005. Some sources and sinks of monomethyl and inorganic mercury on Ellesmere Island in the Canadian high Arctic. Environmental Science and Technology, vol. 39, p. 2686-2701.
- STOW, D. A., Hope, A., McGuire, D., Verbyla, D., Gamon, J., Huemmrich, F., Houston, S., Racine, C., Sturm, M., Tape, K., Hinzman, L., Yoshikawa, K., Tweedie, C., Noyle, B., Silapaswan, C., Douglas, D., Griffith, B., Jia, G., Epstein, H., Walker, D., Daeschner, S., Petersen, A., Zhou, L. et R. Myneni. 2004. Remote sensing of vegetation and land-cover change in Arctic tundra ecosystems. Remote Sensing of Environment, vol. 89, p. 281-308.
- STURGES, W. T., Sullivan, C. W., Schnell, R. C., Heidt, L. E. et W. H. Pollock. 1993. Bromoalkane production by Antarctic ice algae. Tellus B, vol. 45, p. 120-126.
- STURM, M., McFadden, J. P., Liston, G. E., Chapin III, F. S., Racine, C. H. et J. Holmgren. 2001. Snow-shrub interactions in Arctic tundra: a hypothesis with climatic implications. Journal of Climate, vol. 14, p. 336-344.
- SWANSON, A. L., Lefer, B. L., Stroud, V. et E. Atlas. 2005. Trace gas emissions

- through a winter snowpack in the subalpine ecosystem at Niwot Ridge, Colorado. Geophysical Research Letters, vol. 32, L03805, doi:10.1029/2004GL021809.
- TACKETT, P. J., Cavender, A. E., Keil, A. D., Shepson, P. B., Bottenheim, J. W., Morin, S., Deary, J., Steffen, A. et C. Doerge. 2007. A study of the vertical scale of halogen chemistry in the Arctic troposphere during polar sunrise at Barrow, Alaska. Journal of Geophysical Research, vol. 112, D07306, doi:10.1029/2006JD007785.
- TALUKDAR, R. K., Gierczak, T., Goldfarb, L., Rudich, Y., Madhava Rao, B. S. et A. R. Ravishankara. 1996. Kinetics of hydroxyl radical reactions with isotopically labeled hydrogen. Journal of Physical Chemistry, vol. 100, p. 3037-3043.
- TANG, T. et J. C. McConnell. 1996. Autocatalytic release of bromine from Arctic snow pack during polar sunrise. Geophysical Research Letters, vol. 23, p. 2633-2636.
- TANS, P. P., Conway, T. J. et T. Nakazawa. 1989. Latitudinal distribution of the sources and sinks of atmospheric carbon dioxide derived from surface observations and an atmospheric transport model. Journal of Geophysical Research, vol. 94, p. 5151-5172.
- TARASICK, D. W. et J. W. Bottenheim. 2002. Surface ozone depletion episodes in the Arctic and Antarctic from historical ozonesonde records. Atmospheric Chemistry and Physics, vol. 2, p. 197-205.
- THOMPSON, A. M. 1992. The oxidizing capacity of the Earth's atmosphere: probable past and future changes. Science, vol. 256, p. 1157-1165.
- TROMP, T. K., Shia, R.-L., Alen, M., Eiler, J. M. et Y. L. Yung. 2003. Potential environmental impact of a hydrogen economy on the stratosphere. Science, vol. 300, p. 1740-1742.
- ULLRICH, S. M., Tanton, T. W. et S. A. Abdrashitova. 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, vol. 31, p. 241-293.
- URETA, A.-C., Imperial, J., Ruiz-Argüeso, T. et J. M. Palacios. 2005. *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae symbiotic hydrogenase activity and processing are limited by the level of nickel in agricultural soils. Applied and Environmental Microbiology, vol. 71, p. 7603-7606.
- VAN GROENIGEN, K.-J., Six, J., Hungate, B. A., de Graaff, M.-A., van Breemen, N. et C. van Kessel. 2006. Element interactions limit soil carbon storage. Proceedings of the

- National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 103, p. 6571-6574.
- VETRIANI, C., Chew, Y. S., Miller, S. M., Yagi, J., Coombs, J., Lutz, R. A. et T. Barkay. 2005. Mercury adaptation among bacteria from a deep-sea hydrothermal vent. Applied and Environmental Microbiology, vol. 71, p. 220-226.
- VIGNAIS, P. M., Billoud, B. et J. Meyer. 2001. Classification and phylogeny of hydrogenases. FEMS Microbiology Reviews, vol. 25, p. 455-501.
- VINCENT, K. A., Cracknell, J. A., Clark, J. R., Ludwig, M., Lenz, O., Friedrich, B. et F. A. Armstrong. 2006. Electricity from low-level H₂ in still air – an ultimate test for an oxygen tolerant hydrogenase. Chemical Communications, vol. 48, p. 5033-5035.
- VINCENT, K. A., Cracknell, J. A., Lenz, O., Zebger, I., Friedrich, B. et F. A. Armstrong. 2005a. Electrocatalytic hydrogen oxidation by an enzyme at high carbon monoxide or oxygen levels. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 102, p. 16951-16954.
- VINCENT, K. A., Cracknell, J. A., Parkin, A. et F. A. Armstrong. 2005b. Hydrogen cycling by enzymes: electrocatalysis and implications for future energy technology. Dalton Transactions, vol. 21, p. 3397-3403.
- VINCENT, W. F., Gibson J. A. E., Pienitz, R., Villeneuve, V., Broady, P. A., Hamilton, P. B. et C. Howard-Williams. 2000. Ice shelf microbial ecosystems in the High Arctic and implications for life on snowball Earth. Naturwissenschaften, vol. 87, p. 137-141.
- VOLFF, J.-N. et J. Altenbuchner. 1998. Genetic instability of the *Streptomyces* chromosome. Molecular Microbiology, vol. 27, p. 239-246.
- VONK, J. W. et A. K. Sijpesteijn. 1973. Studies on the methylation of mercuric chloride by pure cultures of bacteria and fungi. Antonie van Leeuwenhoek, vol. 39, p. 505-513.
- WALLSCHLÄGER, D., Hintelmann, H., Evans, R. D. et R.-D. Wilken. 1995. Volatilization of dimethylmercury and elemental mercury from river Elbe floodplain soils. Water, Air, and Soil Pollution, vol. 80, p. 1325-1329.
- WÄNGBERG, I., Munthe, J., Berg, T., Ebinghaus, R., Kock, H. H., Temme, C., Bieber, E., Spain, T. G. et A. Stolk. 2007. Trends in air concentration and deposition of mercury in the coastal environment of the North Sea Area. Atmospheric Environment, vol. 41, p. 2612-2619.
- WARNECK, P. 1988. Chemistry of the Natural Atmosphere. San Diego : Academic Press

Inc, 757 p.

- WARWICK, N. J., Bekki, S., Nisbet, E. G. et J. A. Pyle. 2004. Impact of a hydrogen economy on the stratosphere and troposphere studied in a 2-D model. Geophysical Research Letters, vol. 31, L05107, doi:10.1029/2003GL019224.
- WATRAS, C. J., Back, R. C., Halvorsen, S., Hudson, R. J. M., Morrison, K. A. et S. P. Wente. 1998. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. Science of the Total Environment, vol. 219, p. 183-208.
- WEBB, E. K., Pearman, G. I. et R. Leuning. 1980. Correction of flux measurements for density effect due to heat and water vapour transfer. Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society, vol. 106, p. 85-100.
- WEBER, J. H. 1993. Review of possible paths for abiotic methylation of mercury(II) in the aquatic environment. Chemosphere, vol. 26, p. 2063-2077.
- WEDEPOHL, K. H. 1995. The composition of the continental crust. Geochimica et Cosmochimica Acta, vol. 59, p. 1217-1232.
- WELDON, M. M., Smolinski, M. S., Maroufi, A., Hasty, B. W., Gilliss, D. L., Boulanger, L. L., Balluz, L. S. et R. J. Dutton. 2000. Mercury poisoning associated with a Mexican beauty cream. Western Journal of Medicine, vol. 173, p. 15-18.
- WELKER, J. M., Fahnestock, J. T. et M. H. Jones. 2000. Annual CO₂ flux in dry and moist arctic tundra: field responses to increases in summer temperatures and winter snow depth. Climatic Change, vol. 44, p. 139-150.
- WU, Y., Wang, S., Streets, D. G., Hao, J., Chan, M. et J. Jiang. 2006. Trends in anthropogenic mercury emissions in China from 1995 to 2003. Environmental Science and Technology, vol. 40, p. 5312-5318.
- XIAO, X., Prinn, R. G., Simmonds, P. G., Steele, L. P., Novelli, P. C., Huang, J., Langenfelds, R. L., O'Doherty, S., Krummel, P. B., Fraser, P. J., Porter, L. W., Weiss, R. F., Salameh, P. et R. H. J. Wang. 2007. Optimal estimation of the soil uptake rate of molecular hydrogen from the Advanced Global Atmospheric Gases Experiment and other measurements. Journal of Geophysical Research, vol. 112, D07303, doi:10.1029/2006JD007241.
- XIN, M., Gustin, M. S. et D. Johnson. 2007. Laboratory investigation of the potential for re-emission of atmospherically derived Hg from soils. Environmental Science and

Technology, vol. 41, p. 4946-4951.

YANNAI, S., Berdicevsky, I. et L. Duek. 1991. Transformations of inorganic mercury by *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. Applied and Environmental Microbiology, vol. 57, p. 245-247.

YONEMURA, S., Kawashima, S. et H. Tsuruta. 1999a. Continuous measurements of CO and H₂ deposition velocities onto an andisol: uptake control by soil moisture. Tellus B, vol. 51, p. 688-700.

YONEMURA, S., Kawashima, S. et H. Tsuruta. 2000a. Carbon monoxide, hydrogen, and methane uptake by soils in a temperate arable field and a forest. Journal of Geophysical Research, vol. 105, p. 14347-14362.

YONEMURA, S., Morokuma, M., Kawashima, S. et H. Tsuruta. 1999b. Carbon monoxide photoproduction from rice and maize leaves. Atmospheric Environment, vol. 33, p. 2915-2920.

YONEMURA, S., Miyata, A. et M. Yokozawa. 2000b. Concentrations of carbon monoxide and methane at two heights above a grass field and their deposition onto the field. Atmospheric Environment, vol. 34, p. 5007-5014.

YONEMURA, S., Yokozawa, M., Kawashima, S. et H. Tsuruta. 2000c. Model analysis of the influence of gas diffusivity in soil on CO and H₂ uptake. Tellus B, vol. 52, p. 919-933.

ZELLES, L., Palojarvi, A., Kandeler, E., Von Lützw, M., Winter, K. et Q. Y. Bai. 1997. Changes in soil microbial properties and phospholipid fatty acid fractions after chloroform fumigation. Soil Biology and Biochemistry, vol. 29, p. 1325-1336.

ZHANG, H. et S. E. Lindberg. 2001. Sunlight and iron(III)-induced photochemical production of dissolved gaseous mercury in freshwater. Environmental Science and Technology, vol. 35, p. 928-935.

ZHANG, H. H., Poissant, L., Xu, X. et M. Pilote. 2005. Explorative and innovative dynamic flux bag method development and testing for mercury air-vegetation gas exchange fluxes. Atmospheric Environment, vol. 39, p. 7481-7493.

ZIRNGIBL, C., Hedderich, R. et R. K. Thauer. 1990. N⁵,N¹⁰-Methylenetetrahydromethanopterin dehydrogenase from *Methanobacterium thermoautotrophicum* has hydrogenase activity. FEBS Letters, vol. 261, p. 112-116.

- ZÖGER, M., Engel, A., McKenna, D. S., Schiller, C., Schmidt, U. et T. Woyke. 1999. Balloon-borne in situ measurements of stratospheric H₂O, CH₄ and H₂ at midlatitudes. Journal of Geophysical Research, vol. 104, p. 1817-1825.
- ZUO, Y. et R. D. Jones. 1997. Photochemistry of natural dissolved organic matter in lake and wetland waters – Production of carbon monoxide. Water Research, vol. 31, p. 850-858.

