

Zeitschrift: Archives des sciences [2004-ff.]
Herausgeber: Société de Physique et d'histoire Naturelle de Genève
Band: 59 (2006)
Heft: 1

Artikel: L'évolution de l'hydrobiologie microbienne dans le cadre de l'université «extra-muros»
Autor: Peduzzi, Raffaele / Tonolla, Mauro / Peduzzi, Sandro
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-738318>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 17.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

L'évolution de l'hydrobiologie microbienne

dans le cadre de l'Université «extra-muros»*

Raffaele PEDUZZI¹, Mauro TONOLLA, Sandro PEDUZZI, Antonella DEMARTA

Abstract

The evolution of microbial hydrobiology in the frame of «extra-muros» University. - *The idea and concepts of «extra-muros» University lead to the establishment in the Cantone Ticino of the Laboratoire d'écologie microbienne (LEM), the Microbial ecology group of the University of Geneva. The LEM is located and based in the facilities of Cantonal Institute of Microbiology. Thanks to the impulsion of our University in a region without an academic tradition we were able to develop a scientific research line graduate and undergraduate education and training in clinical and environmental microbiology. Our scientific activities focused on bacterial genera naturally developing in freshwater habitats which can contaminate human beings under given circumstances and thus are of importance in clinical microbiology, and on microbial genera which are major key players in biogeochemical cycles in natural and human impacted freshwaters habitats.*

The present contribution collect the cornerstones of our scientific work by describing the researched bacterial genera together with the evolution of more and more powerful analytical tools over more than 30 years of activity.

New technological advances in microbiology and molecular biology permit the detection and tracking of emerging opportunistic pathogens such as, Aeromonas, Yersinia and Legionella in the environment and help to resolve their path from the environment to human contamination and ultimately disease.

A permanently stratified freshwater ecosystem, the meromictic lake Cadagno located nearby the Alpine Biology Centre, was taken as a model for the study of biogeochemical cycles in freshwater habitats. Major interests focused on the biological filter developing in the chemocline, retaining toxic compounds such as sulfide which is mainly driven by the anaerobic key genera such as Chromatium and Lamprocystis.

Moreover, the symbiotic collaboration between Geneva and Ticino promoted and allowed the accomplishment of several PhD research thesis, the foundation of the Alpine Biology Centre in Piora as well as the maintenance of an academic site in the new building of the Cantonal Institute of Microbiology in Bellinzona.

Keywords: *Molecular ecology, environmental microbiology, opportunistic pathogens, Aeromonas, Legionella, Yersinia, Chromatium, Lamprocystis.*

Résumé

Le concept de l'Université «extra-muros» a permis la création au Tessin du Laboratoire d'écologie microbienne (LEM) de l'Université de Genève avec son siège à l'Institut Cantonal de Microbiologie. Grâce à cette impulsion de notre Université dans une région sans tradition académique, nous avons pu développer une ligne de recherche et d'enseignement en microbiologie clinique et de l'environnement. Ces travaux ont porté à examiner plusieurs genres bactériens dont l'habitat naturel est l'eau. Ainsi nous nous sommes intéressés aux bactéries ayant une importance en microbiologie clinique car pouvant contaminer l'homme, ainsi qu'à celles qui représentent des espèces clefs d'écosystèmes hydriques.

Au moyen d'un «excursus» qui considère un suivi de 30 ans, nous retraçons les étapes essentielles de ces recherches en examinant les genres bactériens parallèlement aux techniques analytiques toujours plus performantes qui nous ont permis de les étudier. En particulier pour les bactéries pathogènes opportunistes hydriques comme Aeromonas, Yersinia, et Legionella,

* Ce travail est dédié à la mémoire du Prof. G. Turian

¹ Laboratoire d'écologie microbienne, Université de Genève. Istituto Cantonale di Microbiologia, 6500 Bellinzona.

nous avons pu retracer leurs itinéraires dans la contamination humaine. Par contre, en ce qui concerne les bactéries qui représentent les espèces clefs des écosystèmes hydriques, notre intérêt a été porté sur *Chromatium* et *Lamprocystis* qui constituent un filtre biologique retenant des composés toxiques soufrés dans un lac méromictique naturel pris comme modèle.

Cette symbiose collaborative Genève - Tessin a en outre permis au LEM d'effectuer nombreux travaux de recherche qui ont porté à l'acquisition de plusieurs titres de docteur ès sciences mention biologique, à la création du Centre de Biologie Alpine de Piora ainsi qu'à la sauvegarde de l'aspect académique lors de la construction du nouveau bâtiment pour l'Institut Cantonal de Microbiologie à Bellinzona.

Mots-clés: Ecologie moléculaire, microbiologie environnementale, pathogènes opportunistes, *Aeromonas*, *Legionella*, *Yersinia*, *Chromatium*, *Lamprocystis*

Introduction

Grâce au concept de l'Université «extra-muros» préconisé par les professeurs Greppin et Turian au sein du DBV (Département de biologie végétale), nous avons pu développer une ligne de recherche en microbiologie auprès de l'Institut cantonal de microbiologie (ICM) au Tessin.

Il nous est agréable de retracer dans cet article l'évolution de ces 30 ans d'enseignement et de recherche réalisés dans le cadre académique genevois, ayant pour siège la région de la Suisse italienne dépourvue d'une Faculté des Sciences et jusqu'à 1996 sans Université.

En hommage au Prof. Gilbert Turian qui a cru en cette possibilité nous proposons un «excursus» de cette réalisation scientifique ayant pour thème la microbiologie des eaux.

Thème central de la recherche ont été les genres bactériens dont l'habitat naturel est l'eau *Aeromonas*, *Yersinia*, *Legionella*, *Acinetobacter*, *Chromatium* et *Lamprocystis* investigués avec des approches techniques toujours plus performantes dont il est pertinent de revoir les étapes essentielles.

Il s'agit d'une série de travaux effectués à l'Institut Cantonal de Microbiologie du Tessin au Laboratoire d'Ecologie microbienne de l'Université de Genève ayant pour fil conducteur: les microorganismes à diffusion hydrique (Peduzzi 1985; Peduzzi et al. 1991). Dans le but d'étudier les populations bactériennes dans les différentes niches hydriques ainsi que pour pouvoir tracer les voies (les itinéraires) de contamination des bactéries à pouvoir pathogène à partir de l'environnement hydrique jusqu'à l'homme, nous avons utilisé le long des années plusieurs méthodes soit phénotypiques que moléculaires.

Ces études ont permis l'acquisition de nombreux diplômes en biologie et de nombreuses thèses de doctorat ès sciences présentés à l'Université de Genève.

La lysotypie

La lysotypie des bactéries du genre *Aeromonas* a représenté le premier travail de recherche entrepris pour caractériser des souches isolées de l'environnement aquatique et de matériaux cliniques (Demarta 1989) dans le but d'établir des corrélations entre les deux compartiments. Plusieurs bactériophages capables de lyser les *Aeromonas* furent isolés et utilisés pour lyser les diverses souches d'une collection qui fut constituée en même temps (Demarta et Peduzzi 1984). Des essais «thérapeutiques» dans des bassins d'élevage (bains de santé) de poissons furent aussi entrepris (Peduzzi et al. 2003a). Les conclusions de ce travail avaient mis en évidence l'existence de lysotypes différents selon l'espèce et le degré de pathogénicité. Toutefois, avec ce critère plusieurs souches restaient non typables. A ce moment, la taxonomie officielle du genre *Aeromonas* reconnaissait trois espèces mobiles (*A. hydrophila*, *A. caviae* et *A. sobria*) et une espèce immobile et psychrophile (*A.*

Fig. 1. Tapis bactérien d'*Aeromonas* après 24h d'incubation à 30°C. A: zones de lyse provoquées par différents bactériophages.

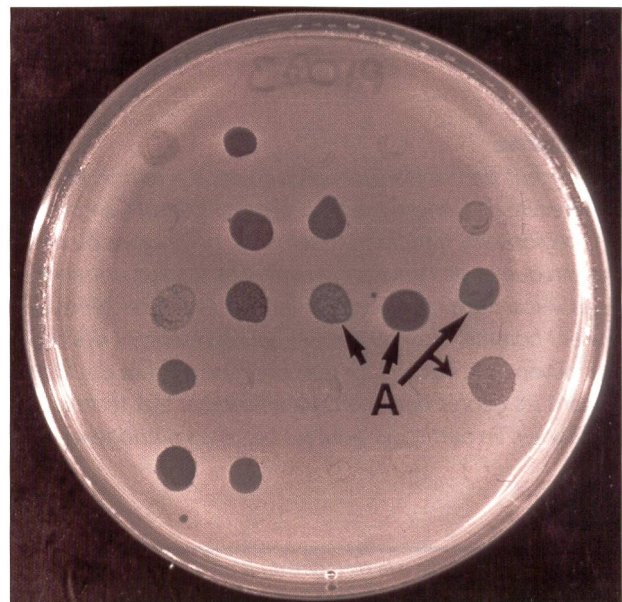
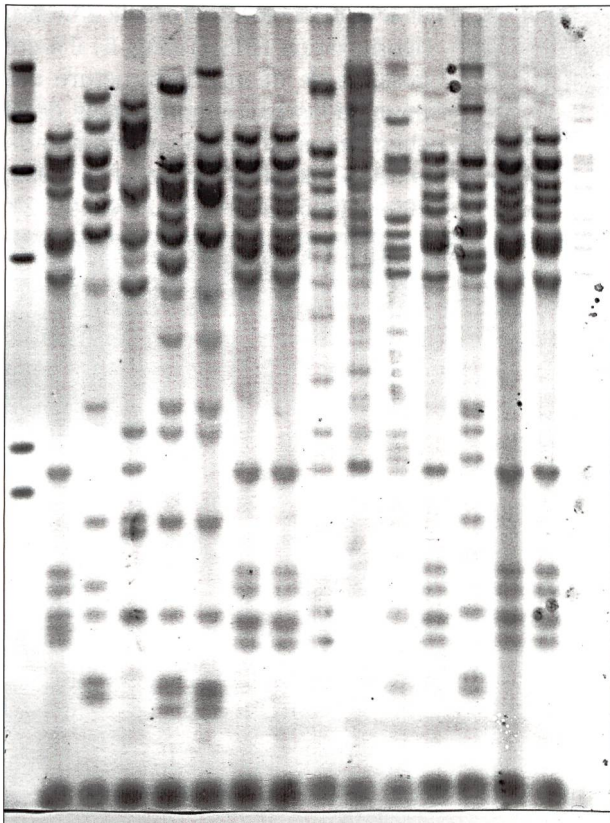




Fig. 2. Coloration spécifique des isoenzymes d'alanine déshydrogénase dans des lysats de différentes souches d'*Aeromonas* après électrophorèse.

salmonicida). A l'heure actuelle, la classification des *Aeromonas* a évolué et des réarrangements taxonomiques avec la description de nouvelles espèces, sous-espèces et biotypes sont à l'ordre du jour. Le genre, qui est subdivisé en 17 espèces génotypiques dont seulement 14 reconnaissables au niveau du phénotype, fait actuellement partie d'une nouvelle famille (les *Aeromonadaceae*) (Fig. 1).

Fig. 3. Ribotyping de souches d'*Aeromonas*.



Multilocus Enzyme Electrophoresis (MEE)

Ayant constaté les limitations rencontrées avec l'application de la lysotypie pour étudier l'épidémiologie des germes à diffusion hydrique, une nouvelle méthode, le «Multilocus Enzyme Electrophoresis» (MEE), fut utilisée pour caractériser une collection de 120 souches d'*Aeromonas* (Tonolla 1992; Tonolla et al. 1991) et de *Yersinia* (Dolina 1990). Le MEE se base sur l'évaluation de la mobilité électrophorétique d'enzymes métaboliques que l'on met en évidence sur des gels d'amidon (Fig. 2). La distance de migration est directement liée à la composition en aminoacides de la forme allélique de l'enzyme étudié et, indirectement, à la séquence

nucléotidique de l'allèle génique correspondant. Le MEE avaient permis de démontrer la diversité génétique des espèces des genres *Aeromonas* et *Yersinia*, l'absence de lignées clonales épidémiques ainsi qu'une nette distinction entre souches d'origine humaine et souches d'origine environnementale (Fig. 3).

Ribotyping

Une étape supplémentaire fut franchie avec le «ribotyping», méthode qui comporte l'analyse électrophorétique de fragments d'ADN bactériens mis en évidence au moyen d'une sonde représentée par les gènes ribosomiaux d'*E. coli*. Chez les *Aeromonas* cette technique permet une discrimination optimale des souches ainsi que leur classification taxonomique. Le «ribotyping» a ainsi été appliqué à l'étude de souches d'*Aeromonas* provenant d'enfants souffrants d'une symptomatologie gastro-entérique et de leur environnement familial. Les mêmes profils de ribotyping avaient pu être retrouvés chez des souches isolées de patients ainsi que de l'environnement. Les résultats avaient permis de démontrer que, au moins dans certains cas, l'origine des affections intestinales chez les enfants peut être directement liée au contact avec des souches présentes dans leur environnement familial. En même temps, l'importante diffusion environnementale des *Aeromonas* et leur relativement faible incidence clinique faisaient supposer l'existence de souches à degré de pathogénicité différent ainsi que des facteurs de prédisposition de l'hôte (Demarta et al. 2000). La réponse immunitaire au niveau de l'intestin humain ainsi que l'étude des protéines à potentialité toxique (entre outre les hémolysines, Fig. 4) ont aussi été étudiés lors d'un travail de thèse (Crivelli 1999; Crivelli et al. 2001). Le



Fig. 4. Culture d'une souche d'*Aeromonas* provoquant une hémolyse totale sur gélose au sang.

«ribotyping» a donné de très bons résultats aussi pour la caractérisation de souches de *Legionella* (Gaia 1995) et de *Bacillus thuringiensis* (Chappuis 2002; De Respini et al. 2006).

■ Polymerase chain reaction (PCR)

Avec la mise au point de la polymérase chain reaction (PCR) permettant l'amplification de portions spécifiques du génome et la méthodologie de séquençage automatique, des études au niveau moléculaires furent initiés. La possibilité de connaître des séquences spécifiques de gènes a permis de développer les études taxonomiques, insérés dans un cadre phylogénétique (Fig. 5), et de les appliquer à plusieurs populations bactériennes. Aussi la ligne de recherche sur la microbiologie des écosystèmes lacustre a bénéficié de ces approches moléculaires en particulier pour l'étude du filtre bactérien présent dans le Lac de Cadagno rare corps d'eau méromictique naturel (Peduzzi et al. 1998).

■ Séquençage, fluorescence in situ hybridization (FISH), Density gradient gel electrophoresis (DGGE)

Grâce à l'approche phylogénétique (amplification, clonage, séquençage) et à la méthode fluorescence in situ hybridization (FISH) (Fig. 6) il a été possible de décrire la structure des populations bactériennes clés de la chemocline et du monimolimnion du lac de Cadagno (Tonolla et al. 1999, 2000, 2005; Schramm et al. 2002). Les bactéries phototrophes anaérobies et les bactéries sulfatoréductrices dominent cet habitat anoxique. Le développement de sondes pour la détection spécifique de ces populations a ensuite ouvert la voie aux études de leurs variations spatio-temporelles sur l'arc de plusieurs années (Peduzzi et al. 2003b; Tonolla et al. 2003, 2004, 2005; Gattuso et al. 2002). Une importante découverte a été la mise en évidence de l'agrégation en amas de bactéries phototrophes pourpres appartenant au genre

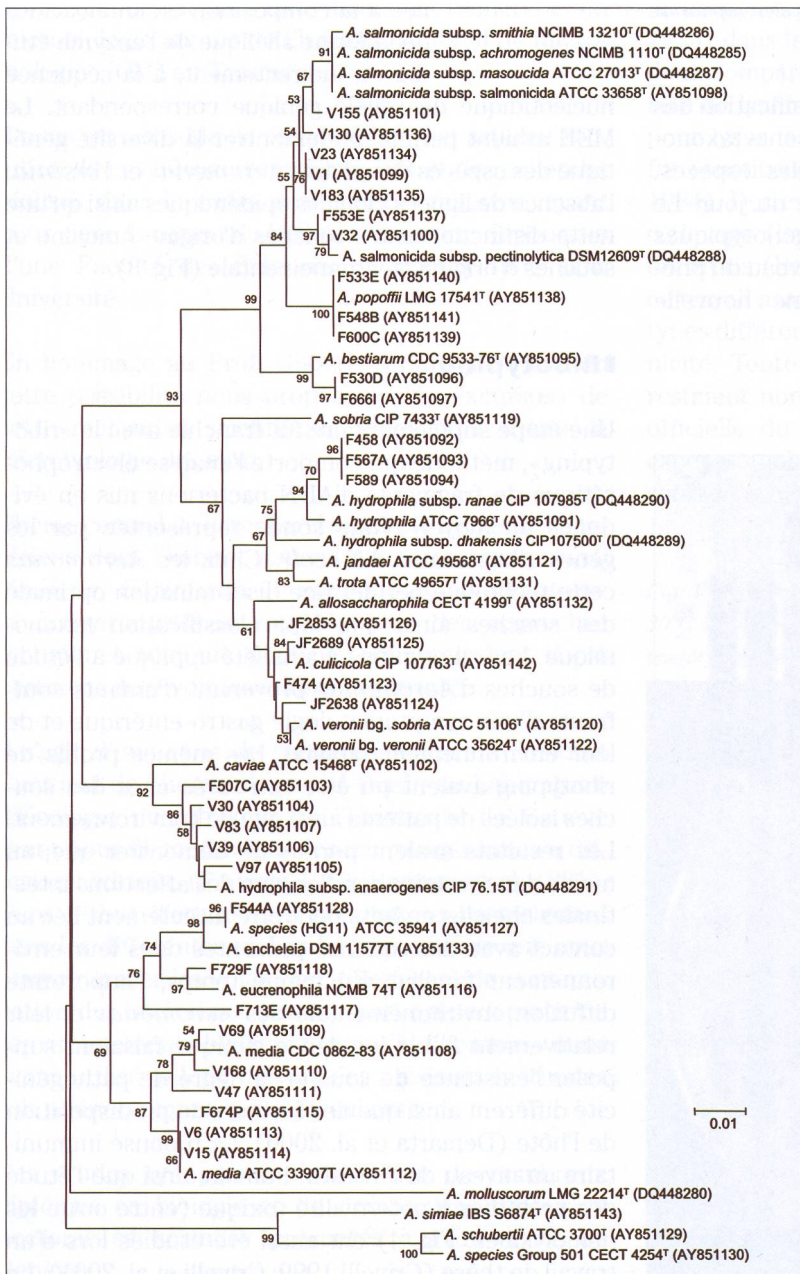


Fig. 5. Arbre phylogénétique obtenu sur la base des séquences du gène *rpoB* pour différencier les espèces d'*Aeromonas*.

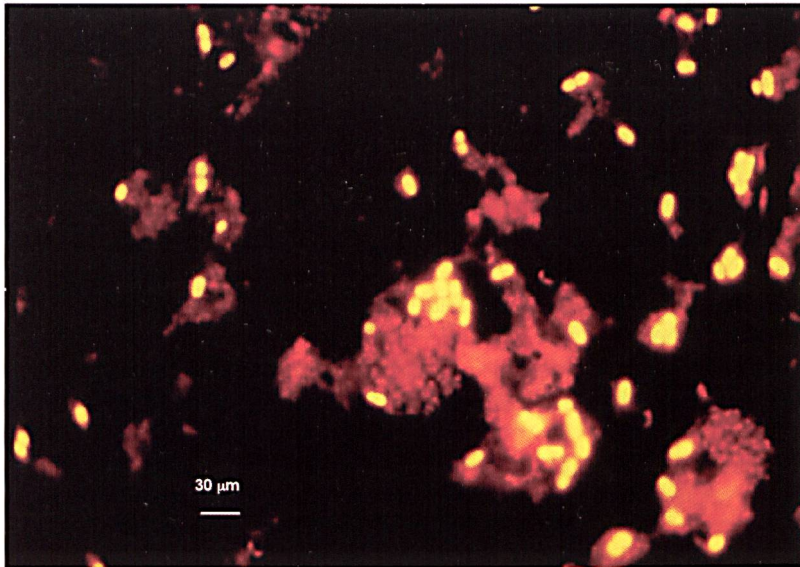
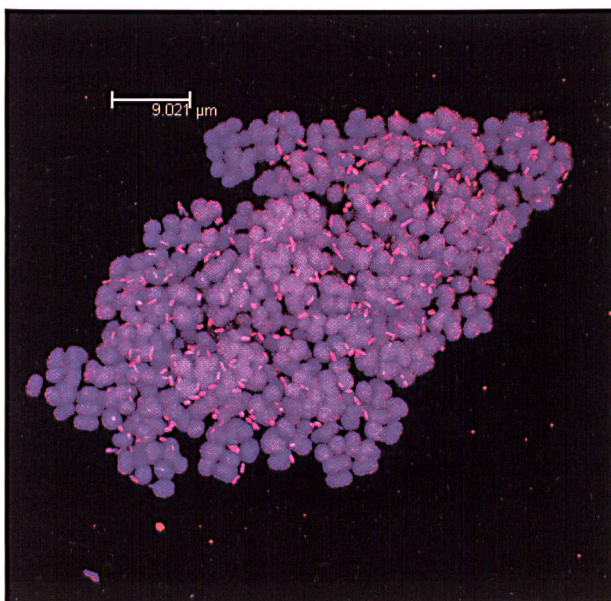


Fig. 6. *Chromatium okenii* de la chemocline du Lac de Cadagno détecté par hybridation «in situ» avec une sonde oligonucléotidique spécifique marquée au Cy3.

Lamprocystis avec des bactéries sulfato-réductrices appartenant au genre *Desulfocapsa* (Fig. 7). Leur mise en culture pure effectuée lors d'une thèse de doctorat (Peduzzi S. 2003, Peduzzi S. et al. 2003c) a ensuite élargi les recherches dans le domaine de la physiologie. La Density Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) couplée à la phylogénie et à la FISH ont ensuite été appliquées pour l'étude comparative des bactéries sulfato-réductrices et des *Archaea* méthanogènes dans les sédiments des lacs Cadagno et

Fig. 7. Image prise avec un microscope confocal. Amas de bactéries phototrophes appartenant au genre *Lamprocystis* (cellules/coques) avec des bactéries sulfato-réductrices du genre *Desulfocapsa* (cellules en bâtonnet).



Rotsee caractérisés par des concentrations différentes en sulfates et en teneur en oxygène (Bottinelli 2006). Cette étude a donné une contribution importante à la mise en évidence des caractéristiques physiques et chimiques des deux sédiments, notamment la teneur ou l'absence d'oxygène en relation à la présence des deux groupes microbiens considérés. La DGGE a de même pu être appliquée pour comparer les populations bactériennes présentes dans les boues activées de stations d'épuration, et évaluer l'effet de contraintes de résidus d'antibiotiques sur ces populations (Corvaglia 2006).

La PCR et le séquençage de gènes ont permis de mieux caractériser l'espèce *Aeromonas popoffii* (Demarta et al. 1999) et d'avoir des



Fig. 8. Antibiogramme d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* résistante à 10 antibiotiques.

outils valables pour l'étude du genre *Aeromonas* dont la taxonomie est complexe au point d'entraver les études épidémiologiques (Demarta et al. 2004; Küpfer et al. 2006). En outre, l'expérience acquise avec ces méthodes nous a permis la différenciation des trois espèces génomiques qui présentent le phénotype *Yersinia frederiksenii* (Demarta et al. 2004) ainsi que la caractérisation d'une souche de *Pseudomonas* sp. (Radice et al. 2006).

Plusieurs études se poursuivent actuellement tout en restant dans la ligne de recherche qui concerne les microorganismes à habitat hydrique. Les techniques moléculaires nous permettent d'investiguer de façon plus approfondie l'expression de phénotypes intéressants et biologiquement importants tels que l'activité de la RubisCO, la présence et la sécrétion de protéines toxiques par les bactéries et la résistance aux antibiotiques (Fig. 8).

Bibliographie

- **BOTTINELLI M.** 2006. Approche moléculaire à l'étude des bactéries sulfato-réductrices et des *Archaea* méthanogènes dans les sédiments des lacs Cadagno et Rotsee. Thèse No 3825. Faculté des sciences, Université de Genève.
- **CHAPPUIS S.** 2002. Approche moléculaire de l'impact de *Bacillus thuringiensis israelensis* en tant que biopesticide. Thèse No 3377. Faculté des sciences, Université de Genève.
- **CORVAGLIA A.R.** 2006. Rôle des résidus d'antibiotiques dans les environnements hydriques sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres *Aeromonas*, *Acinetobacter* et *Legionella*. Thèse No. 3796. Faculté des sciences, Université de Genève.
- **CRIVELLI C.** 1999. Etude du pouvoir immunogène in vitro et in vivo d'exoprotéines des bactéries du genre *Aeromonas*. Thèse No. 3092, Faculté des sciences Université de Genève.
- **CRIVELLI C, DEMARTA A, PEDUZZI R.** 2001. Intestinal secretory immunoglobulin A (IgA) response to *Aeromonas* exoproteins in patients with naturally acquired *Aeromonas* diarrhea. *FEMS Immunology Medical Microbiology* 30:31-35.
- **DE RESPINIS S, DEMARTA A, PATOCCHI N, LÜTHY P, PEDUZZI R, TONOLLA M.** 2006. Molecular identification of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to trace its fate after application as a biological insecticide in wetland ecosystems. *Letters in Applied Microbiology* 43: 495–501.
- **DEMARTA A.** 1989. Lysotypie des *Aeromonas*: applications épidémiologiques et taxonomiques. Thèse No 2290. Faculté des sciences, Université de Genève.
- **DEMARTA A, PEDUZZI R.** 1984. Étude épidémiologique des *Aeromonas* par lysotypie. *Rivista Italiana di Piscicoltura e Ittiopatologia*. 19: 148-155.
- **DEMARTA A, TONOLLA M, CAMINADA AP, RUGGERI N, PEDUZZI R.** 1999. Signature region within the 16S rDNA sequences of *Aeromonas popoffii*. *FEMS Microbiology Letters* 172:239-246.
- **DEMARTA A, TONOLLA M, CAMINADA A, BERETTA M, PEDUZZI R.** 2000. Epidemiological relationships between *Aeromonas* strains isolated from symptomatic children and household environments as determined by ribotyping. *European Journal of Epidemiology*, 16:447-453.
- **DEMARTA A, DE RESPINIS S, DOLINA M, PEDUZZI R.** 2004. Molecular typing of *Yersinia frederiksenii* strains by means of 16s rDNA and *gyrB* genes sequence analyses. *FEMS Microbiology Letters* 238:423-428.
- **DEMARTA A, HUYS G, TONOLLA M, SWINGS J, PEDUZZI R.** 2004. Polyphasic taxonomic study of «*Aeromonas eucrenophila*-like» isolates from clinical and environmental sources. *System Applied Microbiology* 27:343-9.
- **DOLINA M.** 1990. Recherches sur la diffusion aquatique et clinique des bactéries du genre *Yersinia* dans la région tessinoise (Aspects phénotypiques, génériques et épidémiologiques). Thèse No. 2402. Faculté des Sciences, Université de Genève.
- **GAIA V.** 1995. Caractérisation épidémiologique de souches de *Legionella* par trois marqueurs génotypiques: Ribotypie, PLFR et PLFA. Thèse No. 2760, Faculté des Sciences, Université de Genève.
- **GATTUSO JP, PEDUZZI S, PIZAY MD, TONOLLA M.** 2002. Changes in freshwater bacterial composition during measurements of microbial and community respiration. *Journal of Plankton Research* 10: 1191-1216.
- **KÜPFER M, KUHNERT P, KORCZAK BM, PEDUZZI R, DEMARTA A.** 2006. Genetic relationships of *Aeromonas* strains inferred from 16S rRNA, *gyrB* and *rpoB* gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 2743-2751.
- **PEDUZZI R.** 1985. Pollution aquatique, microbiologie et pathologie humaine. *Médecine et Hygiène*. 43: 3485-3488.
- **PEDUZZI R, DEMARTA A, POLONI C.** 1991. Pathologies microbiennes d'origine hydrique. *Médecine et Hygiène*. 49: 3455-3456.
- **PEDUZZI R, BACHOFEN R, TONOLLA M.** 1998. Lake Cadagno: a meromictic alpine lake. *Documenta dell'Istituto Italiano di Idrobiologia, Verbania Pallanza*. 63: 1-152.
- **PEDUZZI R, DEMARTA A, BAGGI F.** 2003a. L'attualità dei virus idrici (Aspetti igienico-sanitari e idrogeologici). *Biologi Italiani*. 3: 36-40.
- **PEDUZZI S.** 2003. Interactions among sulfate-reducing and purple sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno, Switzerland. Thesis No 15015, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich.
- **PEDUZZI S, TONOLLA M, HAHN D.** 2003b. Vertical distribution of sulfate-reducing bacteria in the chemocline of Lake Cadagno, Switzerland, over an annual cycle. *Aquatic Microbial Ecology* 30: 295-302.
- **PEDUZZI S, TONOLLA M, HAHN D.** 2003c. Isolation and characterization of aggregate-forming sulfate-reducing and purple sulfur bacteria from the chemocline of meromictic Lake Cadagno, Switzerland. *FEMS Microbiology Ecology* 45: 29-37.
- **RADICE F, ORLANDI V, MASSA V, CAVALCA L, DEMARTA A, WOOD TK, BARBIERI P.** 2006. Genotypic characterization and phylogenetic relations of *Pseudomonas* sp. (Formerly *P. stutzeri*) OX1. *Current Microbiology* 52:395-9.
- **SCHRAMM A, FUCHS BM, NIELSEN JL, TONOLLA M, STAHL DA.** 2002. Fluorescence in situ hybridization of 16S rRNA gene clones (Clone-FISH) for probe validation and screening of clone libraries. *Environmental Microbiology* 4: 713-720.

- **TONOLLA M.** 1992. Etude épidémiologique et taxonomique du genre *Aeromonas*: application des techniques «Multilocus Enzyme Electrophoresis» et «Ribotyping» à des souches d'origine humaine et hydrique. Thèse No 2543. Faculté des sciences, Université de Genève.
- **TONOLLA M, DEMARTA A, PEDUZZI R.** 1991. Multilocus genetic relationships between clinical and environmental strains. *FEMS Microbiology Letters* 15: 65:193-200.
- **TONOLLA M, DEMARTA A, PEDUZZI R, HAHN D.** 1999. In situ analysis of phototrophic sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *Applied and Environmental Microbiology* 65:1325-30.
- **TONOLLA M, DEMARTA A, PEDUZZI S, HAHN D, PEDUZZI R.** 2000. In situ analysis of sulfate-reducing bacteria related to *Desulfocapsa thiozymogenes* in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *Applied and Environmental Microbiology* 66: 820-824.
- **TONOLLA M, PEDUZZI S, HAHN D, PEDUZZI R.** 2003. Spatio-temporal distribution of phototrophic sulfur bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno (Switzerland). *FEMS Microbiology Ecology* 43: 89-98.
- **TONOLLA M, PEDUZZI S, DEMARTA A, PEDUZZI R, HAHN D.** 2004. Phototrophic sulfur and sulfate-reducing bacteria in the chemocline of meromictic Lake Cadagno, Switzerland. *Journal of Limnology* 63: 157-166.
- **TONOLLA M, PEDUZZI R, HAHN D.** 2005. Long-Term Population Dynamics of Phototrophic Sulfur Bacteria in the Chemocline of Lake Cadagno, Switzerland. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 3544-3550.
- **TONOLLA M, BOTTINELLI M, DEMARTA A, PEDUZZI R, HAHN D.** 2005. Molecular identification of an uncultured bacterium ("morphotype R") in meromictic Lake Cadagno, Switzerland. *FEMS Microbiology Ecology* 53: 235-244.

