

ISSN 1424-4993

Ecole doctorale en microbiologie
Piora, 2007

Triangle Azur
Universités de Genève Neuchâtel Lausanne

Actes et contributions scientifiques

MILIEUX ALPINS ET CHANGEMENT GLOBAL

Vol. 1

Recueil de contributions à l'Ecole doctorale

*sous la responsabilité de
Raffaele Peduzzi, Mauro Tonolla et Renata Boucher-Rodoni*

Edizioni Centro Biologia Alpina
Piora, 2007

En couverture:
l'agonie du Glacier du Lucendro (St. Gotthard)

Photo: été 1927 et été 2007

Sommaire

I. Introduction	7
<i>Raffaele Peduzzi, Renata Boucher-Rodoni</i>	
II. Répercussions biologiques des changements climatiques sur les lacs alpins de haute altitude	9
<i>Raffaele Peduzzi, Antonella Demarta, Sandro Peduzzi, Mauro Tonolla</i>	
1. Introduction	9
2. Région géographique considérée	9
3. Changement climatique et population planctonique	10
4. Changements climatiques et répercussion sur les populations bactériennes du Lac de Cadagno	14
5. Limnologie alpine et signification des données récoltées	15
6. Discussion	15
III. Répercussions sanitaires liées aux changements climatiques	19
<i>Simona Casati</i>	
1. Introduction	19
2. Vecteurs impliqués à nos latitudes	20
2.1. La tique <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	20
2.2. La tique <i>Ixodes ricinus</i>	20
2.3. Le moucheron <i>Culicoides</i>	21
2.4. Les moustiques	22
3. Conclusion	23
IV. Les tapis microbiens et la dynamique hydrique de la tourbière de Cadagno	25
<i>Xavier Alexis Walter, Christophe Dupraz, Jakob Zopfi</i>	
1. Tapis microbiens	25
2. Hydrogéologie de la tourbière de Cadagno	27
3. Caractérisation de la tourbière	27
Entrées d'eaux dans le système: résurgences et sources advectives	28
Haut-marais acide et bas-marais alcalin	32
Dynamique hydrique	32
Évaporation et conséquences	33
Zones de contacts et évolution du site	33
4. Les tapis microbiens dans la tourbière	35
Présence de tapis et chimie des eaux	35
Types de tapis caractérisés	37
Quatre types majeurs de tapis microbiens	41
5. Conclusion	41

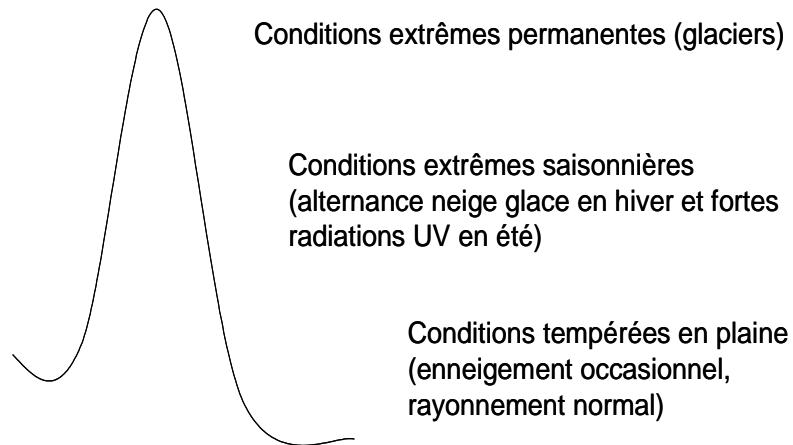
V. Détection de <i>Diphyllobothrium latum</i> par génotypage moléculaire chez les hôtes intermédiaires de quatre lacs subalpins	45
<i>Barbara Wicht, Raffaele Peduzzi</i>	
1. Introduction	45
<i>Diphyllobothrium latum</i>	45
2. Monitorage de <i>Diphyllobothrium</i> chez les hôtes intermédiaires	47
2.1 Zooplancton (larves procercoïdes)	47
2.2. Poisson (larves plérhocercoïdes)	49
3. Discussion	50
VI. A brief introduction to diapause in freshwater zooplankton with reference to the interest of studying diapause patterns in high mountain lakes	53
<i>Nicoletta Riccardi</i>	
1. Introduction	53
2. Zooplankton life cycles	54
2.1. Cladocera	54
2.2. Copepoda	55
2.3. Rotifera	55
3. Ecological significance of diapause	56
3.1. Escape in space	57
3.2. Escape in time	57
4. Induction and termination of diapause	58
5. Dormancy effect on population dynamics of zooplankton	60
6. Which the fate of diapausing eggs?	61
7. Diapause patterns in high mountain lakes	62
VII. Val Piora - ein mikrobiologischer Feldführer	71
<i>Reinhard Bachofen, Helmut Brandl</i>	
1. Einleitung	71
2. Mikroorganismen in aquatischen Lebensräumen	74
Massenentwicklungen von Mikroorganismen im freien Wasser	74
Massenwachstum in Wasserpfützen	75
Schicht phototropher Bakterien im Cadagnosee und Meromixis	75
Uferbiofilme in stehenden Gewässern	79
Biofilme in Fliessgewässern	79
Biofilme auf der Oberfläche stehender Gewässer	79
3. Mikroorganismen in terrestrischen Lebensräumen	80
Mikroorganismen auf Erdoberflächen und Erdkrümeln	81
Mikroorganismen auf Baumrinden und Steinen	82
Endolithische Mikroorganismen	84
Mikroorganismen als Bewohner von Eis und Schnee	85
Die Mikrobenmatten im Feuchtgebiet westlich von Cadagno	86

Stickstoff-Fixierung und symbiotische Lebensweise von Bakterien mit Erlen	93
Zusammenfassung	94
VIII. Analyses of uncultured <i>Frankia</i> populations in root nodules of different alder species	97
<i>Allana Welsh, Babur S. Mirza, Dittmar Hahn</i>	
IX. Der historische Bergbau im Val Piora und Val Cadlimo – Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Metallen	105
<i>Helmut Brandl</i>	
X. Biodiversität der Benthischen Diatomeengemeinschaft im Abfluss des Cadagnosees	111
<i>Lirika Kupe, Ferdinand Schanz, Reinhard Bachofen</i>	
1. Einleitung	111
2. Material und Methoden	111
3. Resultate	112
4. Diskussion	113
Zusammenfassung	114
XI. Liste et adresses des intervenants	116

I. Introduction

Les milieux alpins sont des biotopes complexes soumis à des conditions extrêmes, où des variations climatiques, même infimes, peuvent avoir des conséquences importantes sur les organismes.

Mais ces conditions extrêmes ne sont pas « permanentes » à tous les niveaux.



Depuis un siècle, du fait des changements climatiques, les glaciers de haute altitude ont subi une réduction spectaculaire de 30 à 40%. Ce recul des glaciers et la réduction des précipitations neigeuses ont des répercussions importantes sur les écosystèmes aquatiques et terrestres des régions situées en aval. Ces milieux sont soumis à des conditions extrêmes de façon saisonnière, avec alternances d'une situation hivernale avec une longue période de neige, glace, obscurité et d'une situation estivale avec un fort ensoleillement (pénétration des UV jusqu'à -20m dans le milieu aquatique). L'équilibre biologique est évidemment fragile dans de tels biotopes, les organismes devant s'adapter aux conditions de température et lumière associées à la situation géographique particulière.

À cause des variations climatiques, il faut s'attendre à un changement physiologique au niveau de ces organismes, car si les surfaces restent sans glace ni neige pendant des périodes prolongées, les cycles biologiques sont perturbés. Ainsi, par exemple, dans les lacs alpins la saison de production est courte (un pic de production primaire par an) et les chaînes alimentaires pauvres. Mais du fait des changements climatiques la période de production primaire est prolongée, correspondant donc à un enrichissement potentiel de la chaîne alimentaire.

Ainsi, bien que l'impact des changements globaux soit a priori considéré comme négatif, dans ce cas l'augmentation de la production primaire liée au réchauffement climatique paraît positif pour l'écosystème alpin au niveau lacustre, du moins à court terme. Cependant des modifications dans la structure des populations, telles que les changements de dominance de bactéries phototrophes anoxiques dans la chimiocline, peuvent entraîner des conséquences à long terme, non encore perceptibles et difficiles à prédire.

La présence sur le site de Piora depuis 1993 d'une station alpine de haute altitude a permis un suivi à long terme d'un certain nombre de paramètre climatiques, chimiques et biologiques.

Le présent fascicule tente donc d'illustrer quelques exemples de répercussions du changement climatique sur les milieux alpins soumis à des conditions extrêmes saisonnières : lacs alpins (microbiologie), manteau neigeux (microorganismes extrémophiles dépendant de la neige pour leur cycle de vie), « mats » (métabolisme des biotopes liés surtout au marécage de Cadagno).

Le Lac de Cadagno qui présente une situation de méromicticité crénogénique constitue un modèle d'un océan ancestral avec une vie microbienne anoxique. Par ce rapprochement les recherches effectuées actuellement permettent de considérer l'évolution récente et ancienne de la microbiologie de l'écosystème.

En outre l'état méromictique, exemple unique sur l'Arc Alpin, qui trouve son origine dans des sources sulfureuses sous-lacustre, permet de suivre les modifications du cycle de vie des dominances des microorganismes clefs du métabolisme du corps d'eau.

Ces perturbations de l'équilibre biologique causées par le réchauffement global, traduit par des modifications des populations bactériennes photosynthétiques et anaérobiques liées au cycle du soufre, nous exhortent à ralentir l'évolution sur la voie où nous sommes engagés.

En outre il nous a semblé pertinent de recueillir dans le même fascicule d'autres contributions dont le thème se rapporte à l'écologie alpine et qui ont fait l'objet d'exposés à l'Ecole doctorale de microbiologie

Raffaele Peduzzi, Renata Boucher-Rodoni

II. Répercussions biologiques des changements climatiques sur les lacs alpins de haute altitude

***Raffaele Peduzzi, Antonella Demarta,
Sandro Peduzzi, Mauro Tonolla***

1. Introduction

Depuis le milieu du 19^e siècle, la surface des glaciers a été réduite de 30-40%, et ce processus s'accélère actuellement.

Les répercussions sur les lacs alpins sont difficiles à prévoir et moins évidentes que l'effet sur les glaciers. Ces conséquences, non nécessairement négatives du point de vue biologique, n'ont été que peu étudiées jusqu'ici.

Les lacs alpins de haute altitude constituent des environnements particulièrement sensibles et sont souvent situés à des niveaux à peine inférieurs à ceux des glaciers. Ce sont des écosystèmes extrêmes, menacés par les phénomènes globaux. A cause du froid, de la pauvreté des nutriments, de la forte irradiation UV et des longues périodes d'obscurité, ils constituent des habitats exceptionnels. Sur de tels habitats extrêmes, des variations climatiques, même infimes, peuvent avoir des conséquences très importantes, sur les organismes extrémophiles. Il apparaît donc intéressant de vérifier les conséquences du réchauffement de la planète aussi au niveau de ces métabolismes délicats.

2. Région géographique considérée

Notre observation est basée sur une expérience de terrain mûrie par la fréquentation assidue, constante au cours du temps à partir de 1983, avec des mesures régulières réalisées chaque année dans les lacs du Val Piora pendant la 3^e semaine de juillet (29^e semaine de l'année) à l'occasion du stage d'Hydrobiologie Microbienne Ecologie Alpine (HMEA) de l'Université de Genève. Au cours de ce stage était réalisée la comparaison des profils biologiques et physico-chimiques des lacs situés à des altitudes différentes, et sur des socles géologiques calcaires et cristallins.

Les échantillonnages réalisés de 1983 à 2005 concernent les lacs suivants :

- Lago Scuro: altitude 2451m ;
- Lago di Dentro: 2298m ;
- Laghi di Taneda: 2305m ;
- Lago di Giübin: 2097m ;
- Lago Tom: 2021m;
- Lago di Cadagno: 1923m.

En outre les mêmes lacs étaient visités dans un but didactique lors des stages:

- Ecole doctorale en microbiologie
- Diplôme d'étude approfondies en microbiologie (DEA)
- Master en sciences naturelles de l'environnement (MESNE)

3. Changement climatique et population planctonique

Les prélèvements réalisés sur les lacs alpins mentionnés ci-dessus illustrent l'effet de l'augmentation de la température dans la dynamique interne du métabolisme du corps d'eau. Il est possible de reprendre les déterminations planctoniques, le nombre d'espèces de phyto- et zooplancton, et analyser ainsi le rapport entre les deux compartiments: nombre d'espèces de zooplancton sur nombre d'espèces de phytoplancton (fig. 1). La ligne de tendance indique une augmentation du rapport dans les années récentes, soit une augmentation du nombre d'espèces de zooplancton par rapport au nombre d'espèces de phytoplancton.

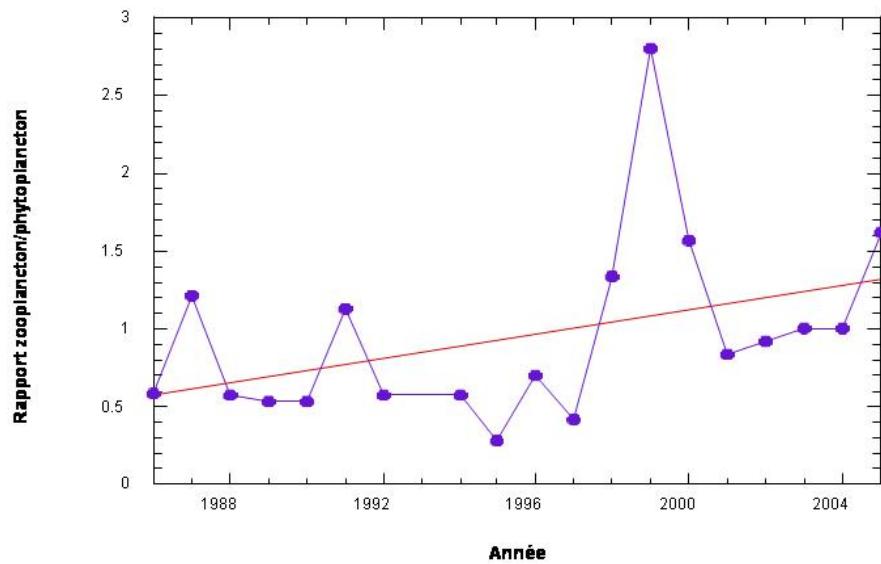


Fig. 1

Suivi pendant les années 1986-2005 du rapport : nombre d'espèces de zooplancton sur nombre d'espèces de phytoplancton. L'allure de la ligne rouge (régression linéaire) fait état de l'augmentation du nombre relatif d'espèces de zooplancton qu'on a pu déterminer.

Selon le graphique classique de Odum (1973) concernant le mécanisme des successions des populations phytoplanctoniques dans les lacs de la zone tempérée, « il y a un notable bloom printanier, et un autre, généralement plus faible, en automne».

Dans les lacs de haute altitude, à cause de la présence de neige et de glace, la production annuelle de phytoplancton se réduit à un seul pic, en été. En ce qui concerne le lac de Cadagno, un second pic de production primaire est cependant prévisible.

La tendance constatée dans les dernières années est que déjà pendant la 29^e semaine de l'année le lac se trouve dans une situation de post-bloom, et donc dans une phase de prolifération zooplanctonique, ce qui reproduit la périodicité de la succession saisonnière des lacs des zones tempérées.

Au cours des dernières années, l'augmentation de la température atmosphérique mensuelle moyenne dans la période printanière (Fig. 2a et 2b) anticipe la succession des populations planctoniques, comme cela semble se vérifier dans le lac de Cadagno.

De plus, l'augmentation de la température pourrait permettre le prolongement de la phase de production primaire, possible grâce à l'absence de neige, ce qui se traduit par une richesse accrue dans la chaîne alimentaire.

Ces données sont à mettre en relation avec la présence toujours plus faible de neige et de glace sur la surface des lacs considérés, une constatation réalisée au moment des prélèvements.

En effet, dans la zone du Val Piora, le long du parcours classique effectué pour échantillonner les lacs, il est actuellement toujours plus rare de trouver la surface des lacs glacée ou enneigée durant la période d'échantillonnage annuelle (lors du stage universitaire effectué en juillet).

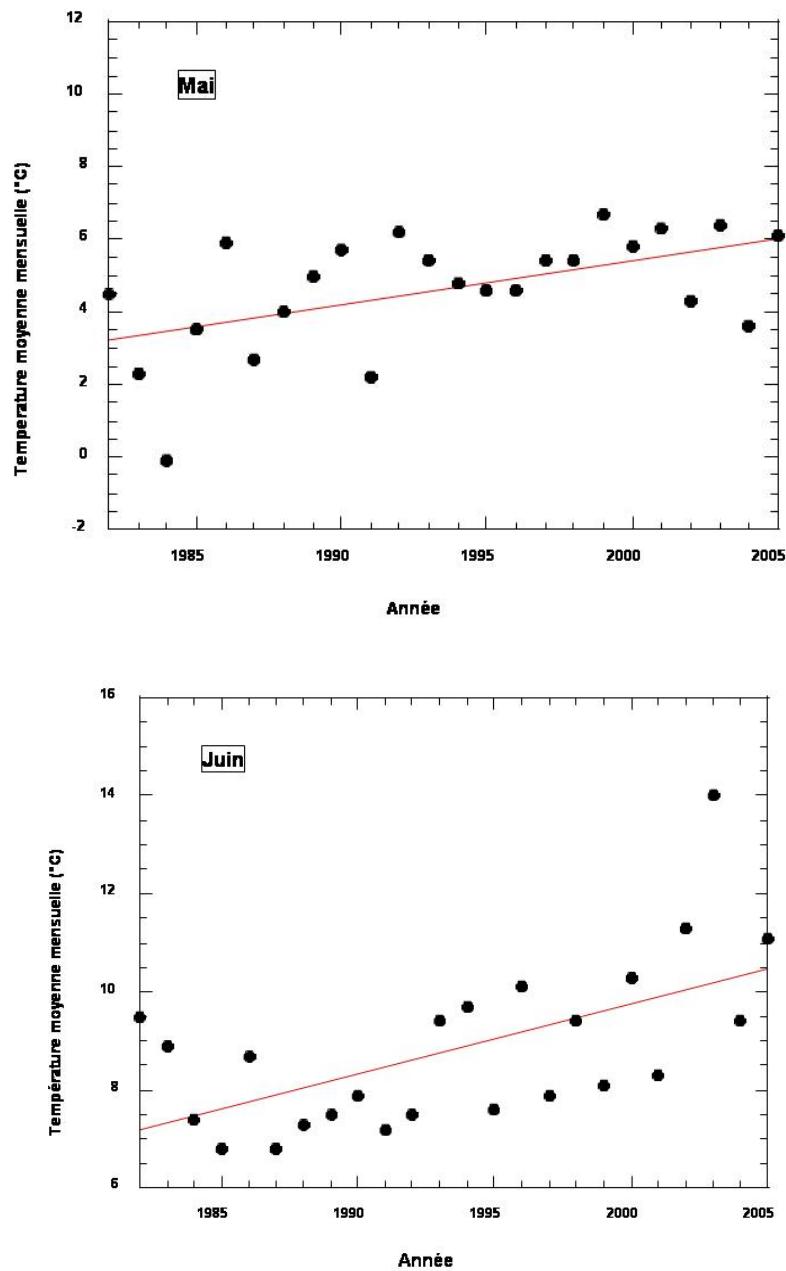


Fig. 2a-b

Suivi pendant les années 1982-2005 des températures atmosphériques moyennes en mai et en juin dans la région de Cadagno.

L'allure des lignes rouges de régression linéaire fait état de l'augmentation de la température. Données fournies par M. Fosco Spinedi de Météo Suisse Locarno.
(Fig. 2a évolution température de mai; Fig. 2b évolution température de juin.)



a)



b)

3 a-b-c-d

Vue panoramique sur les trois lacs (Taneda, Tom et Ritom).

Au premier plan Lac de Taneda (2305 m s.l.m.) avec différentes situations d'enneigement constatées en juillet (29^e semaine de l'année).

Les photos 4a et 4c donnent l'état de couverture de glace et de neige normalement rencontré en juillet pendant les années 80 en comparaison de la situation sans neige ni glace constaté dans les années 90 (4b, 4d).



c)



d)

4. Changements climatiques et répercussion sur les populations bactériennes du Lac de Cadagno

Les changements climatiques ont une influence directe sur les cycles hydriques alpins. Il faut en outre noter que les 10 dernières années ont été les plus chaudes du dernier millénaire et ont influencé de façon mesurable certains équilibres écologiques hydriques (EAWAG, 2003; Psenner, 2003; Livingstone, 2005). En ce qui concerne le lac de Cadagno, depuis 1994, une étude de surveillance continue des populations bactériennes phototrophes anoxiques a révélé des changements substantiels après 1999, avec le passage d'une dominance de bactéries phototrophes pourpres (Fam. *Chromatiaceae*) à des bactéries photosynthétiques vertes (Fam. *Chlorobiaceae*) (Fig. 4). Les bactéries vertes étaient d'abord représentées par une seule espèce (*Chlorobium phaeobacteroides*) présente à de faibles concentrations. Cette espèce a été ensuite remplacée par l'espèce *Chlorobium clathratiforme* ce qui a déterminé le changement de dominance de bactéries pourpres à des bactéries vertes dans la chimiocline.

Le nombre de bactéries pourpres a ainsi diminué de dix fois alors que *C. clathratiforme* représentait en 2001 le 95% des bactéries phototrophes totales. L'invasion de *C. clathratiforme* a provoqué une augmentation totale des bactéries dans la chimiocline, qui passe de 5 millions par ml en 2001 à 15 millions par ml en 2002 (Tonolla et al, 2005). (Fig. 4).

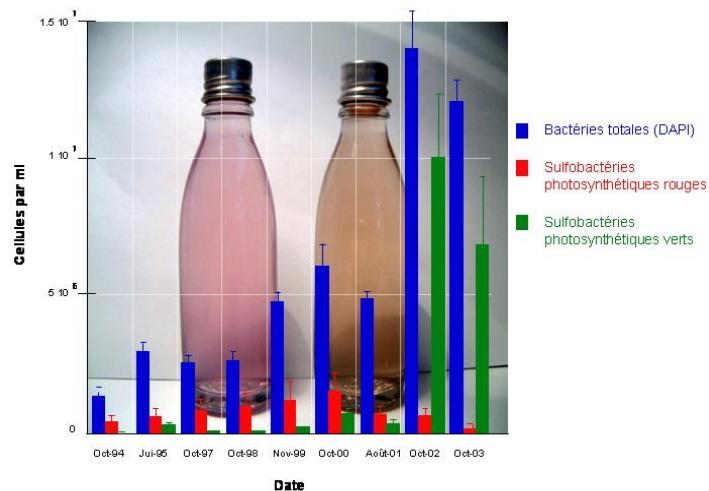


Fig. 4

Dénombrements des bactéries totales (bleu), effectués de 1994 à 2003. Sulfobactéries photosynthétiques pourpres (rouge). Sulfobactéries photosynthétiques verts (vert) dans les échantillons d'eau prélevés du chimiocline du Lac de Cadagno.

À partir de 1999 nous constatons un changement dans la dominance des populations des sulfobactéries photosynthétiques de rouges à verts.

Ce changement concernant la structure des populations de bactéries phototrophes a été accompagné par des changements d'intensité de la lumière et des concentrations des sulphures au niveau de la thermocline.

5. Limnologie alpine et signification des données récoltées

Le réchauffement de la Terre ne constitue pas un phénomène uniforme, mais présente plutôt une variabilité régionale et interannuelle ; il semble donc intéressant d'évaluer les indications que nous pouvons tirer de la documentation recueillie de façon systématique dans un microclimat comme celui de la région de Piora. Il faut de toute façon relever que l'acquisition de nos données destinées surtout à des fins didactiques, n'était pas liée spécifiquement à la mise en évidence des conséquences biologiques liées au phénomène d'augmentation de la température.

Dans les lacs alpins la saison de production est très courte et les chaînes alimentaires sont pauvres. Le métabolisme en haute altitude est généralement différent de celui des lacs préalpins. Il faut s'attendre à un changement physiologique important car il paraît évident que dans un lac dont la surface n'est ni enneigée ni glacée, la lumière pénètre plus facilement et en conséquence la production primaire due au phytoplancton est augmentée. Toutefois il faut aussi considérer que plus l'altitude est élevée, plus la masse d'eau sera soumise aux ondes courtes, la radiation UV (280-320 nm). Dans un lac alpin la radiation UV peut pénétrer jusqu'à 20 m de profondeur. Ceci implique, après une situation hivernale avec une longue période d'obscurité, une situation estivale avec un environnement fortement soumis aux radiations des rayons solaires.

6. Discussion

On sait que depuis une vingtaine d'années la Suisse tend vers un climat de type méditerranéen. Selon Météo Suisse en 100 ans on a enregistré une augmentation moyenne de 1.5°C. Les conséquences sur les lacs alpins et les lacs de barrage en altitude sont très importantes. Même si récemment M. Crichton dénonce dans son dernier thriller « Etat d'urgence », dans un mélange savant de fiction et données scientifiques sélectivement choisies, l'« invention » du réchauffement climatique par les scientifiques, au niveau alpin les répercussions ne sont plus contestables. Défi aux climatologues, Crichton affirme dans ce livre qui cherche la provocation que le réchauffement de la Terre serait en fait « un mythe » et que les scientifiques ont toujours surestimé le réchauffement avec des modèles prévisionnels incertains et peu fiables. Il trouve trop catastrophique le scénario futur bâti sur ces bases et relativise donc les répercussions de l'augmentation d' « un demi degré en 100 ans ». Malgré ces tentatives de brouiller les cartes, le débat sur le réchauffement est depuis

longtemps dépassé, et l'influence des activités anthropiques apparaît comme un fait incontestable.

Aujourd'hui la vraie question est de savoir comment ralentir le phénomène.

Sans la nécessité de mettre en cause la fiabilité des modèles de prévision climatique, nous pensons que nos observations font partie de l'évidence et peuvent aider à percevoir quels sont les effets des changements climatiques au niveau des écosystèmes complexes tels les lacs alpins. Le fait de passer une période de temps plus longue sans neige constitue pour l'écosystème une prolongation de la période de production primaire, qui, en mai juin, devrait logiquement se traduire en un enrichissement de la chaîne alimentaire. En effet, dans la région de Piora, les printemps toujours plus chauds avec une augmentation moyenne de la température de 2°C (Fig. 2) semblent déjà provoquer une augmentation de la durée de production primaire.

En outre, le recul des glaciers et la réduction des précipitations neigeuses continueront presque certainement avec des répercussions importantes sur l'hydrologie des régions situées en aval. Par exemple, le lac Giübin, masse d'eau éphémère, est asséché de façon « anticipée » pendant la saison estivale.

Dans le futur, les observations et les échantillonnages sur les lacs de la région de Piora, effectués annuellement par le Centre de Biologie Alpine (CBA) constitueront une opportunité certaine pour monitorer et vérifier quels effets, dus aux changements climatiques, auront lieu dans les lacs de haute altitude.

Bibliographie

Centro di Biologia Alpina, Piora. Cours d'Hydrobiologie microbienne. Stage: «Ecologie alpine et microbienne». Université de Genève. Les Rapports de stage depuis 1982 à 2007.

Chrichton M. (2005) Etat d'urgence, Ed. Laffront, Paris.

De Bernardi C., Giussani G., Mosello R., Peduzzi R. (1991) La limnologie alpine d'altitude: histoire et état actuel. In : Troisième Conférence Internationale des Limnologues d'expression française. Ed. J.-P. Vernet, Morges, 30-38.

Eawag News (2003) Hydrosystèmes alpins – une diversité fragile en détresse, 55f, 12-14.

Kandel R. (2002) Le réchauffement climatique. Presses Universitaires de France. Que sais-je No. 2650, Paris.

Krajick K. (2004) Il y a quelqu'un là-haut?. In: «Le risque climatique», Les Dossiers de la Recherche, No. 17, 68-70.

Livingstone D.M. (2005) La couverture de glace des lacs et rivières. Eawag News 58f, 19-22.

Odum E.P. (1973) Principi di Ecologia. Ed. Piccin, Padova.

Peduzzi R., Demarta A., Peduzzi S., Tonolla M. (2006) Ripercussioni biologiche dei cambiamenti climatici sui laghi alpini di alta quota. Biologi italiani, 5: 5-8.

Precepitu A.M., Greppin H., Degli Agosti R. (2005) Enveloppes de viabilité territoriale et changement climatique en Suisse. Université de Genève, Cahiers géographiques No. 6.

Psenner R. (2003) Les lacs alpins: des écosystèmes extrêmes menacés par le phénomènes globaux. In : Hydrosystèmes alpins – une diversité fragile en détresse. Eawag News, 55f, 12-14.

Rebetez Martine. (2002) La Suisse se réchauffe. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.

Thompson R., Kamenik C., Schmidt R. (2005) Ultra-sensitive Alpine lakes and climate change. Journal of limnology, 64 (2): 139-152.

Tonolla M., Peduzzi R., Hahn D. (2005) Long-Term Population Dynamics of Phototrophic Sulfur Bacteria in the Chemocline of lake Cadagno, Switzerland. Appl. Environ Microbiol. 71 : 3544-3550.

Ufficio federale dello sviluppo territoriale. (2003) Pericoli naturali e Convenzione delle Alpi, Analisi degli eventi e raccomandazioni. Dipartimento federale dell'Ambiente, dei Trasporti, dell'Energia e delle Comunicazioni, Berna.

III. Répercussions sanitaires liées aux changements climatiques

Simona Casati

1. Introduction

Nous analysons les risques d'apparition de nouvelles maladies vectorielles suite au réchauffement climatique avec des exemples concrets.

En Suisse, les changements climatiques se traduisent par une augmentation significative de la température de 1.5°C durant les 100 dernières années (Meteosuisse, www.meteosuisse.ch), par des hivers plus courts et plus doux et des événements climatiques anormaux. Ces changements climatiques ont un impact sur le comportement humain (les activités à l'extérieur sont plus fréquentes et prolongées sur l'arc de l'année), sur les vecteurs (diffusion, prolongation de la période d'activité, implantation de vecteurs d'origine tropicales) et sur les agents pathogènes (accomplissement du cycle de développement). Toutes ces conséquences amènent à un changement épidémiologique.

Les maladies vectorielles sont divisées en maladies à tiques et à insectes (ex. moustiques). A nos latitudes, on trouve les tiques, en particulier l'espèce *Ixodes ricinus*, distribuée dans toute l'Europe, laquelle peut transmettre deux importantes maladies: la borrélioze de Lyme et la méningoencéphalite à tique. Depuis 2002, une nouvelle tique d'origine tropicale, *Rhipicephalus sanguineus*, s'est établie au sud des Alpes (Bernasconi et al., 2002). Il y a encore quelques années, les moustiques tropicaux n'étaient pas un problème pour notre région, mais depuis 2003 le moustique tigre a été signalé au Tessin (Flacio et al., 2004).

Tout de même Il ne faut pas oublier d'autres importants facteurs qui ont été impliqués dans les changements écologiques pendant les 50 dernières années, après la deuxième guerre mondiale. La suburbanisation, abandon de la ville pour retourner à la campagne, a porté à une augmentation de l'exposition de l'homme aux tiques. L'ampleur et la fréquence des transports et des échanges commerciaux ainsi que l'augmentation des voyages peuvent amener à l'introduction de nouveaux vecteurs. Enfin, le reboisement a eu un rôle considérable avant tout sur la taille de la population des ongulés, donc sur la croissance de la population des tiques et par conséquent sur l'incidence des maladies liées aux tiques.

Y a-t-il des risques pour la Suisse ? Oui, pour la Suisse et surtout pour le Tessin. Le Tessin avec sa position géographique particulière (au sud des Alpes) et son climat, plus doux par rapport au reste de la Suisse, pourrait être considéré comme une porte d'entrée, plus particulièrement ces dernières décennies

probablement sous l'influence des changements climatiques. En effet, on observe des organismes qui se déplacent vers le nord, et par conséquent ils peuvent potentiellement amener, si c'est le cas, les agents pathogènes qu'ils abritent.

2. Vecteurs impliqués à nos latitudes

2.1. La tique *Rhipicephalus sanguineus*

La tique *R. sanguineus* sensu lato est un complexe d'espèces endémiques dans les régions subtropicales et tropicales. Ensuite, elle a été importée dans différentes régions du centre et nord de l'Europe, surtout dans des environnements fermés (maisons, structures liées aux chiens, etc.) qui fournissent le microclimat et l'apport de sang nécessaires à leur survie.

A partir des années '80, les tiques du genre *Rhipicephalus* ont été signalées au Tessin, avec une prédominance dans le sud de cette région (Aeschlimann et al., 1986; Miserez et al., 1990; Bernasconi et al., 1997). L'étude de Bernasconi et al. (1997) suggérait la colonisation du Tessin par ces tiques en se basant sur les observations suivantes: la présence des *Rhipicephalus* dans différentes localités au nord et au sud et sur différents hôtes (chien, chat, bovin et homme), la présence dans les habitations et la récolte de tiques adultes et de formes immatures surtout pendant les mois doux (printemps et été) de l'année (Bernasconi et al., 1997). Ces éléments pouvaient être considérés comme un signal d'une bonne adaptation de cette tique au Tessin, ensuite la colonisation a été confirmée par l'identification moléculaire de deux populations de *Rhipicephalus* qui coexistent : *R. sanguineus* s.s. et *R. turanicus* (Bernasconi et al., 2002).

Deux facteurs peuvent expliquer l'expansion de la distribution de ce vecteur vers le nord par rapport à son origine: la mobilité des personnes et de leurs animaux de compagnie et les changements climatiques. Il est possible qu'un certain nombre de *Rhipicephalus* sp. ait été introduit au Tessin durant les dernières décennies et que *R. sanguineus* se soit ensuite adapté au climat et à l'environnement de cette région, modifiés par les changements climatiques des dernières années.

Ces 2 espèces de tiques sont connues pour transporter différents agents pathogènes, principalement *R. sanguineus* s.s. qui peut être vecteur de *Rickettsia conorii*, *R. conorii* Israel et *Coxiella burnetii*. A l'heure actuelle ces microorganismes pathogènes ne sont pas présents au Tessin (Casati, 2005). Par conséquent, il est important de surveiller cette implantation afin de détecter l'éventuelle arrivée de ces organismes exotiques.

2.2. La tique *Ixodes ricinus*

Les changements climatiques ont un impact aussi pour la tique *I. ricinus* qui est présente depuis longtemps dans toute l'Europe (à l'exception de l'Islande)

notamment sur la prolongation de la période d'activité (recherche de l'hôte, reproduction, cycle de vie). Cette prolongation a entraîné une augmentation de la population des tiques et par conséquent l'augmentation de l'incidence aux maladies liées à ces arthropodes. Un autre effet concerne la distribution des tiques en altitude, si sa présence ne dépassait pas les 1'200 mètres (Aeschlimann, 1972), maintenant on peut les trouver jusqu'à 1'500 mètres d'altitudes. En plus, en dehors de la Suisse, mais toujours en Europe et plus particulièrement en Suède, on a observé le déplacement vers le nord et l'augmentation de la densité de la population d'*I. ricinus* dans ce pays (Lindgren and Gustafson, 2001).

2.3. Le moucheron *Culicoides*

Les *Culicoides* sont des moucherons de petite taille et ils appartiennent à la famille des *Ceratopogonidae* et au genre *Culicoides* composé par 1'400 espèces distribuées dans tout le monde. Seul le 1% de ces espèces sont des vecteurs compétents capables de transmettre le virus BT (famille *Reoviridae*, genre *Orbivirus*) responsable de la maladie de la langue bleue (bluetongue disease, BT). Cette maladie n'est pas transmissible à l'homme, mais affecte surtout les ovins avec un taux de mortalité qui peut atteindre 30% et plus rarement bovins et caprins. L'organisation mondiale de la santé animale (OIE) a inscrit cette maladie dans la liste A des épizooties car elle a un grand pouvoir de diffusion avec des répercussions économiques importantes dues à la perte d'animaux (depuis 1998 au 2006 plus d'1 million de moutons sont morts) en Europe du sud, à la diminution des produits et aux restrictions des commerces internationaux (dans les régions contaminées l'exportation est bloquée). La propagation de la BT en Europe du sud est strictement liée à l'expansion septentrionale du vecteur afro-asiatique : *C. imicola*. Récemment, d'autres vecteurs, moins compétents, ont été identifiés : *C. obsoletus* (figure 1), *C. scoticus*, *C. dewulfi* (groupe *Obsoletus*) et *C. pulicaris* (figure 2, groupe *Pulicaris*). Ces espèces sont distribuées dans toute l'Europe.



Figure 1. *C. obsoletus*, femelle, aile



Figure 2. *C. pulicaris*, femelle, aile

Dans le passé, des épisodes de BT ont été registrés en Europe sans conséquences graves et prolongées dans le temps, mais depuis 1998 on observe le déplacement progressif de la BT grâce au vecteur compétent *C. imicola* dans les pays du bassin méditerranéen avec 2 voies d'invasion à est et à ouest (Purse et al., 2005). Donc, jusqu'à l'été 2006 on s'attendait que le front *C. imicola* avancerait progressivement vers le centre de l'Europe en passant avant tout par la Tessin. Toutefois, pendant l'été 2006 l'émergence BT a été signalée au nord de l'Europe dans 5 pays : Pays Bas, Belgique, France, Luxembourg et Allemagne. Aujourd'hui (novembre 2007), neuf pays sont concernés par cette maladie : Pays Bas, Belgique, France, Luxembourg, Allemagne Angleterre, Danemark, Suisse et République Tchèque. Personne ne s'attendait à cette nouvelle situation, mais plutôt à une progression de la BT et non pas à un saut du sud au nord sans passer par le centre. Les investigations ont établi que le vecteur responsable était *C. dewulfi* (jamais suspecté) et portait le sérotype 8; la voie d'entrée de l'agent pathogène reste un mystère.

A l'heure actuelle, la Suisse se retrouve entre 2 fronts : *C. imicola* au sud et le sérotype 8 au nord de l'Europe. Au Tessin, la population de *Culicoides* est composée de 25 espèces : *C. achrayi*, *C. cataneii*, *C. chiopterus*, *C. circumscriptus*, *C. deltus* s.s., "C. deltus variété lupicaris", *C. dewulfi*, *C. festivipennis*, *C. flavipulicaris*, *C. furcillatus*, *C. grisescens pro-partre*, "C. grisescens atypique", "C. grisescens forme intermédiaire", *C. indistinctus*, *C. kibunensis*, *C. lupicaris* s.s., "C. lupicaris variété deltus", *C. nubeculosus*, *C. obsoletus*, *C. pallidicornis*, *C. pulicaris*, *C. punctatus*, "C remmi", *C. scoticus* et *C. subfasciipennis* (Casati et al., submitted). Les résultats du monitorage indiquent l'absence de *C. imicola*, mais la présence du groupe *Obsoletus* et *Pulicaris*.

2.4. Les moustiques

Au Tessin depuis 2003 le moustique tigre *Aedes albopictus* a été signalé (Flacio et al., 2004). Il peut constituer le vecteur entre autres du virus de la Dengue et du virus Chikungunya, ce dernier a rejoint l'Italie pendant l'été 2007 (200 cas répertoriés dans la région de Ravenna).

3. Conclusion

Pour conclure, la problématique des maladies émergentes est tout à fait actuelle. Elle est liée soit aux nouveaux micro-organismes pathogènes importés par des nouveaux vecteurs soit par des micro-organismes exotiques qui trouvent sur place le vecteur compétent. Donc, il est important de surveiller l'implantation de nouveaux vecteurs porteurs de micro-organismes exotiques, des vecteurs connus (par ex. *I. ricinus*) pour garder sous contrôle la situation ou pour éventuellement recenser l'apparition de nouveaux micro-organismes à nos latitudes.

Bibliographie

- Aeschlimann, A.** (1972) *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (Ixodoidea: Ixodidae). Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. Acta Tropica 29, 321-340.
- Aeschlimann, A., Schneeberger, S., Pfister, K., Burgdorfer, W., Cotty, A.** (1986) Données nouvelles sur les tiques *Ixodes* du canton du Tessin (Suisse) et sur la présence d'agents rickettsiens dans leur hémolymph. Actes de la Société Helvétique des Sciences Naturelles 1, 58-68.
- Bernasconi, M.V., Valsangiacomo, C., Balmelli, T., Peter, O., Piffaretti, J.C.** (1997) Tick zoonoses in the southern part of Switzerland (Canton Ticino): occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Rickettsia* sp. European Journal of Epidemiology 13, 209-215.
- Bernasconi, M.V., Casati, S., Peter, O., Piffaretti, J.C.** (2002) *Rhipicephalus* ticks infected with *Rickettsia* and *Coxiella* in Southern Switzerland (Canton Ticino). Infection Genetics and Evolution 2, 111-120.
- Casati, S.** (2005) Etude sur la diversité génétique des tiques *Rhipicephalus sanguineus* et *Ixodes ricinus*, et des agents pathogènes *Rickettsia* sp, *Coxiella* sp., *Borrelia Burgdorferi* sensu lato, *Babesia* sp. et le virus de l'encéphalite à tique en Suisse. Thèse Université de Neuchâtel.
- Casati, S., Racloz, V., Delécolle, J.C., Kuhn, M.A., Mathis, A., Griot, C., Stärk, K., Vanzetti, T.** submitted. Entomological monitoring of bluetongue vectors at sentinel sites in southern Switzerland: an investigation on the *Culicoides* population composition.
- Flacio, E., Lüthy, P., Patocchi, N., Guidotti, F., Tonolla, M., Peduzzi, R.** (2004) Primo ritrovamento di *Aedes albopictus* in Svizzera. Bollettino della Società ticinesi di Scienze naturali 92, 141-142.
- Lindgren, E., Gustafson, R.** (2001) Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. Lancet 358, 16-18.
- Miserez, V., Gern, L., Aeschlimann, A.** (1990) *Borrelia burgdorferi* in ticks of the Canton Tessin (Switzerland). Parassitologia 32, 293-299.
- Purse, B.V., Mellor, P.S., Rogers, D.J., Samuel, A.R., Mertens, P.P., Baylis, M.** (2005). Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. Nature reviews. Microbiology 3, 171-181.

IV. Les tapis microbiens et la dynamique hydrique de la tourbière de Cadagno

Xavier Alexis Walter, Christophe Dupraz, Jakob Zopfi

1. Tapis microbiens

Présent sur Terre depuis plus de 3 Ga, les tapis microbiens représentent sans doute les plus anciens écosystèmes terrestres (Hofmann *et al.*, 1999). Les stromatolites qui représentent des empilements itératifs (lamination) de tapis microbien et de minéraux piégés ou précipité *in situ*, ont dominé plus de 70% de l'histoire de la Terre (Grotzinger et Knoll 1999). Débutant déjà dans l'Archéen, leur règne s'est surtout étendu durant le Protérozoïque (figure 1).

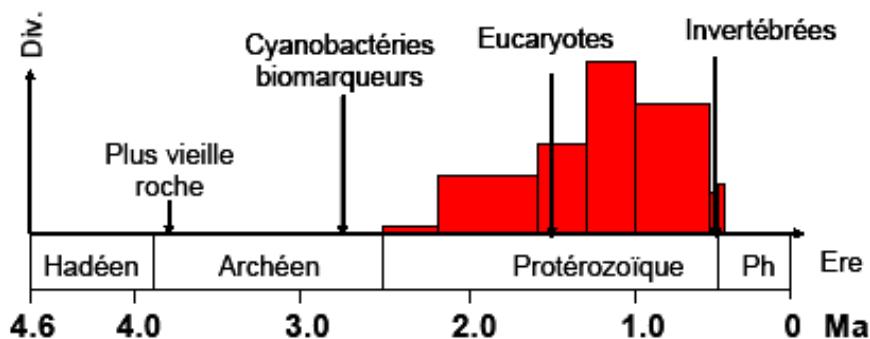


Figure 1: Abondance et diversité relatives des tapis microbiens durant l'histoire de la terre. Graphique effectué à partir des données compilées par Walter *et al.* (1992). Ces données sont basées sur l'étude de structures organo-minérales fossiles, les stromatolites, dont la formation est attribuée à l'activité de tapis microbiens.

Il est généralement admis que cette suprématie s'est terminée lors de l'apparition des invertébrés qui exercèrent une forte pression sur les écosystèmes microbiens par des phénomènes de prédation et de compétition pour les niches écologiques (Fisher, 1965; Walter *et al.*, 1992 ; Awramik, 1992; Riding, 2006). Ces derniers se sont donc retranchés dans des milieux où cette pression était moindre, comme dans les environnements extrêmes où les eucaryotes sont presque absents, p. ex., des milieux hypersalins (Wieland *et al.* 2004; Dupraz et Visscher 2005) ou hydrothermaux (fortes températures; Farmer, 2000; Jahnke *et al.*, 2004).

Wiggli *et al.*, (1998) ont signalé pour la première fois la présence de tapis microbiens présentant des morphologies variées dans la tourbière de Cadagno. Cependant, cette dernière est caractérisée comme milieu mésobiotique, ce qui

fait de ces tapis d'eaux douces une exception rare. Comment ces tapis microbiens peuvent-ils se développer dans un milieu qui semble non limitant pour les eukaryotes, et est-ce que les différentes morphologies observées correspondent à différents types de tapis microbiens?

Les tapis sont considérés comme des écosystèmes dynamiques semi-fermés (Stal *et al.* 1994) contenant les principaux groupes trophiques, p. ex., des producteurs primaires, des consommateurs secondaires et des décomposeurs (Stolz *et al.*, 1988). Les tapis microbiens présentent ainsi une grande diversité d'organismes et de voies métaboliques. Il est généralement admis que les tapis sont composés de cinq groupes fonctionnels bactériens majeurs: les phototrophes oxygéniques, les hétérotrophes aérobies, les hétérotrophes anaérobies (p. ex. bactéries sulfatoréductrices); les fermenteurs anaérobies, et les bactéries sulfoxydantes (Visscher et Stolz, 2005; figure 2). Bien qu'étant les communautés principales d'un tapis microbien, ce ne sont pas les seules. En effet on y trouve des eucaryotes: des algues vertes ou silicieuses (diatomées), des protozoaires et des invertébrés.

La stratification observée dans un tapis microbien reflète les diverses guildes et gradients physico-chimiques qui résultent de l'équilibre entre les différentes activités métaboliques. Le grand rendement des producteurs primaires (phototrophes et chimiotrophes) est combiné au recyclage efficace des nutriments entre populations interdépendantes. Cette richesse de métabolismes est caractérisée par des sources variées d'énergie, de carbone et de pouvoir réducteur qui permettent aux tapis de s'établir, de se développer et de conserver une certaine biomasse (Teske et Stahl, 2002). Cependant Il faut prendre en compte que l'établissement d'un tapis microbiens n'est possible que si la pression exercée par les brouteurs est faible.

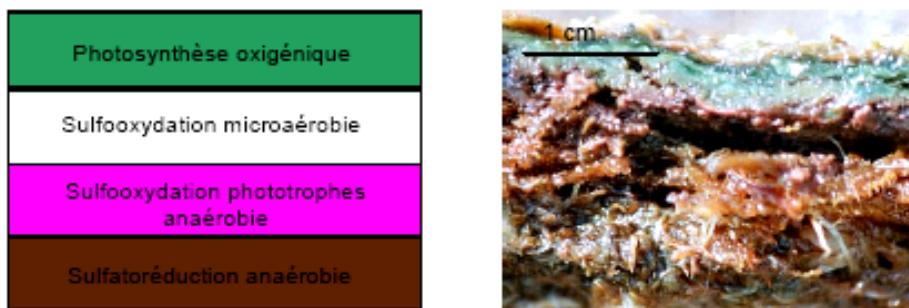


Figure 2: Schéma de la structure métabolique d'un tapis microbien, à gauche, A droite, photographie d'un tapis microbien où l'on discerne les différentes couches horizontales.

2. Hydrogéologie de la tourbière de Cadagno

L'examen des cartes géologiques (Krige et Van Holst, 1918) nous apprend que la tourbière s'est développée dans une cuvette à une altitude de 1913 mètres (Carte Suisse, N°1252). La roche en place est une veine de cargneule engoncée entre deux assises schisteuses à amphibolites et micas (Löw et Wyss, 1999). Les dépôts morainiques surmontant les roches en place ont été eux-mêmes recouverts par les éboulis provenant de l'érosion du massif schisteux durant le quaternaire. La présence de marnes dans ces dépôts permet l'accumulation d'eau et le développement d'une tourbière (figure 3).

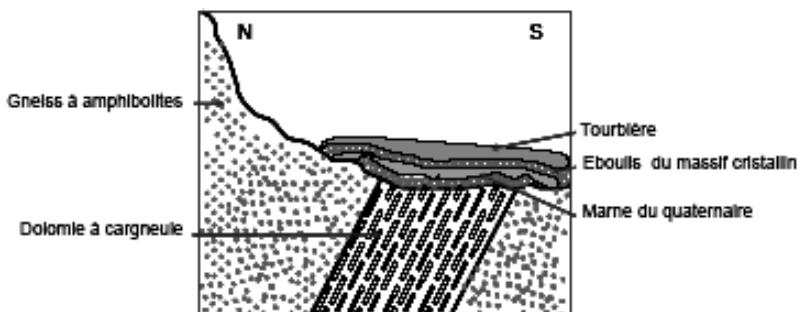


Figure 3: Coupe conceptuelle de la tourbière de Cadagno selon l'axe nord-sud construite à partir de la carte géologique (Krige et Van Holst, 1918) et d'une coupe géologique (Löw et Wyss, 1999) qui passe à 1km en amont de la vallée selon un axe nord-sud.

Les couches de dolomie étant poreuses, l'eau de pluie s'y infiltre facilement à l'inverse des roches cristallines où l'eau ruisselle en surface sans y pénétrer. La position du site en cuvette d'une part et la couche de marne sous la tourbière d'autre part font qu'une quantité importante d'eaux de pluie transitant par la cargneule ressort dans la tourbière sous forme de résurgences. Sachant que le substrat rocheux est hétérogène (dolomie à cargneule), on suppose que les eaux vont se charger plus ou moins d'ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} et HCO_3^- en fonction des zones qu'elles traversent et de leur temps de résidence.

3. Caractérisation de la tourbière

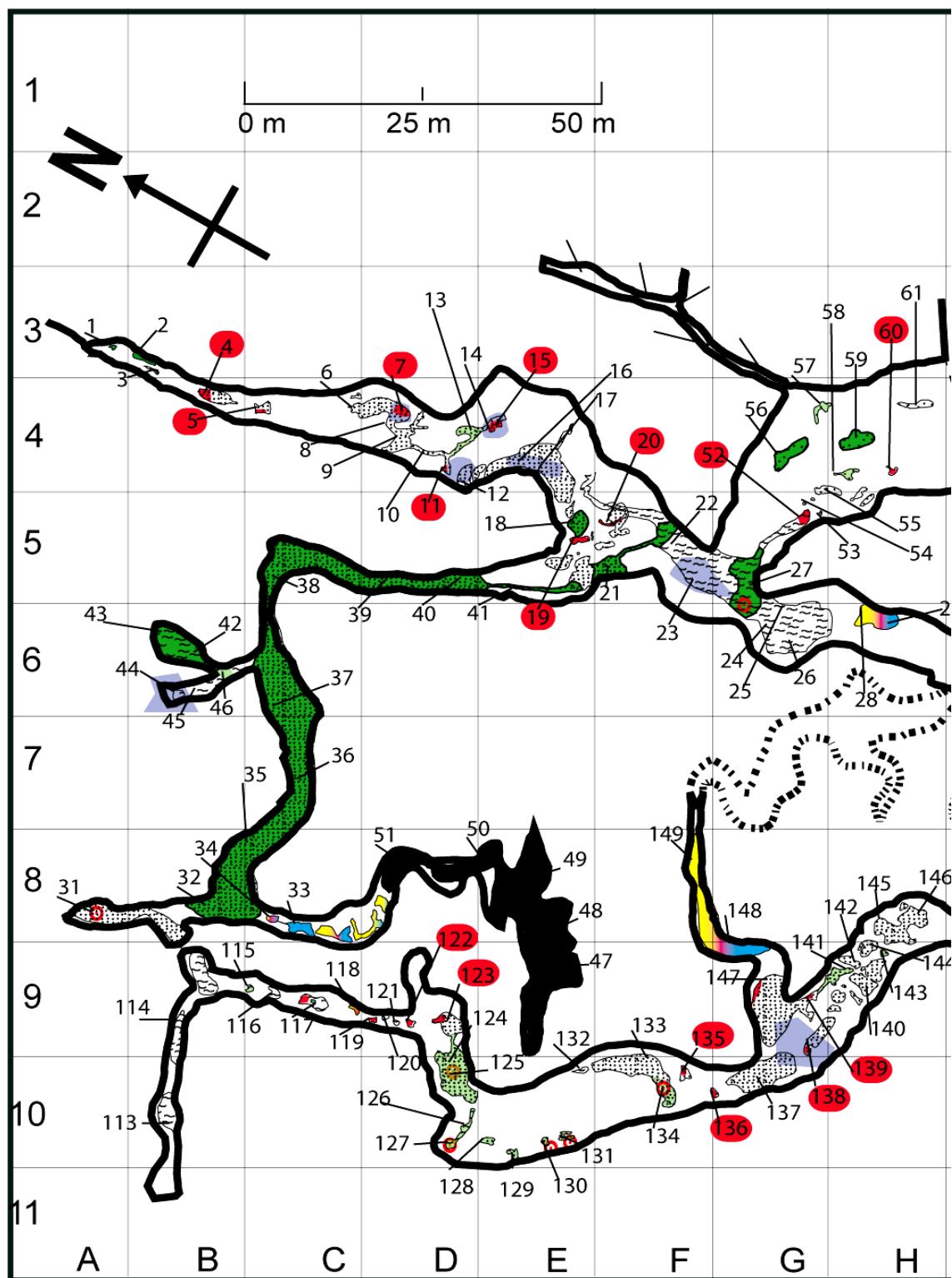
L'étude du système et de sa dynamique saisonnière s'est essentiellement basée sur la chimie des eaux: résultats de la chromatographie ionique, mesures de conductimétrie et de pH. Les observations et échantillonnages ont été effectués lors de trois campagnes de mesures en début juin et début juillet 2006, ainsi qu'en début septembre 2005. Le nombre de mesures varie en fonction de la taille de la mare (des 197 points de départ, 175 ont été conservés; figure 4).

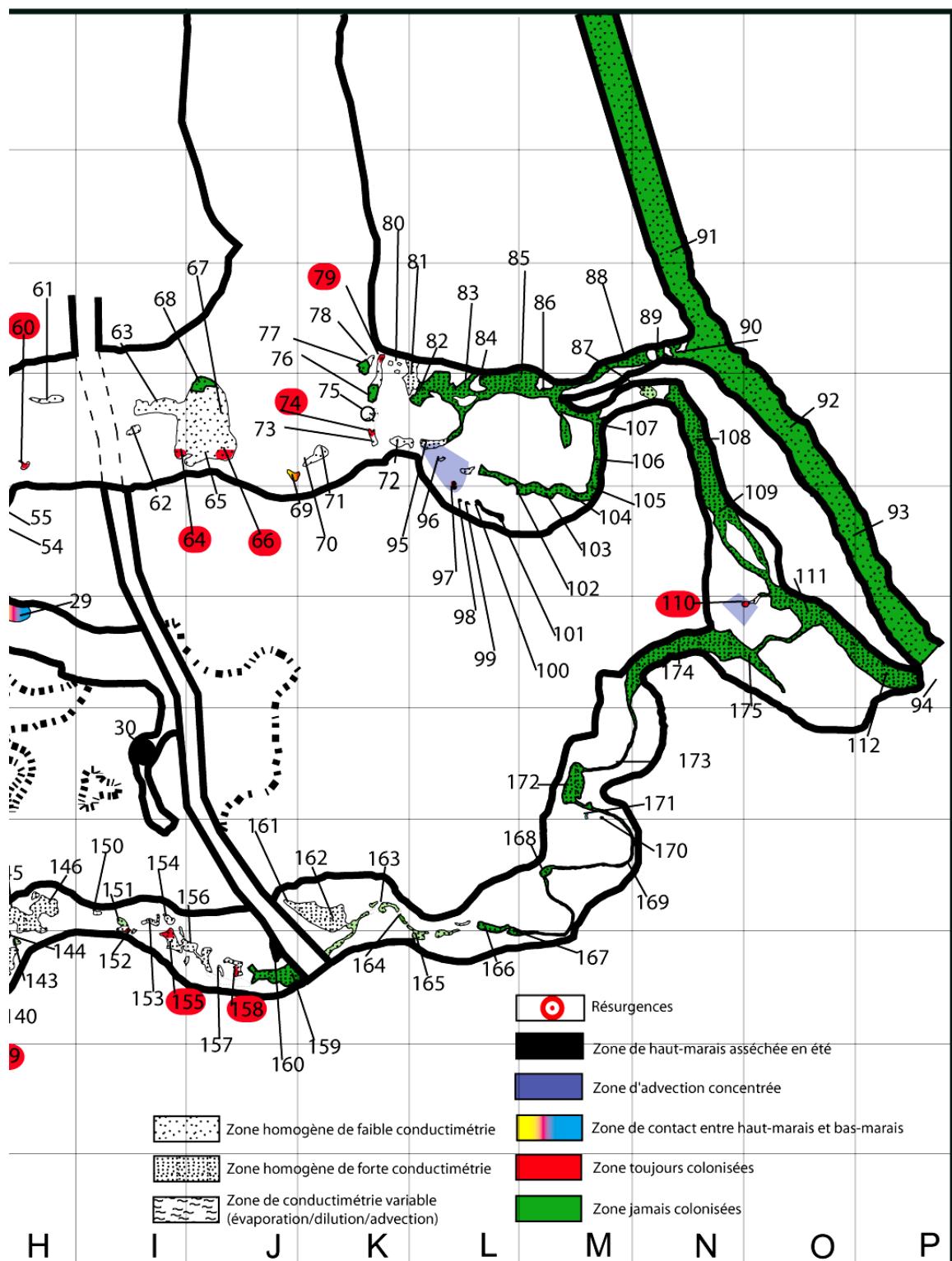
Entrées d'eaux dans le système: résurgences et sources advectives

Par "résurgence" nous désignons toute source d'eau dont la sortie est observable en surface du sédiment. Dans le site, cela se manifeste par un trou dans la couche de sédiment organique, à travers lequel on distingue un fond minéral (micas, gneiss à amphibolites) (pts. \approx 27, 125, 130, 131, 133-134, \approx 138). Un courant y est toujours visible sous forme de particules en mouvement. Un trou dans le sédiment n'est cependant pas toujours nécessaire pour reconnaître une résurgence. La présence d'une grande proportion de minéraux ainsi que d'une petite fontaine de particules minérales entraînées vers le haut par un courant d'eau suffit à l'identification (pt. 31). Certaines zones et petites mares ont une teneur en sels plus élevée que les eaux environnantes sans pour autant que des résurgences ne soient visibles (pts. 7, 11-12, 14-15, 17, 23, 44-45, 69-70, 95-97 et 110). A la surface de la roche, les points de sortie du système karstique sont localement stables au cours d'une saison. Comme la superficie de la zone organique influencée par une résurgence dépend du régime hydrique (quantité d'eau et pression hydrostatique), un flux de type advectif se manifeste par une intensité variable, dans le temps et l'espace, de la mesure d'électroconductimétrie. Cette variabilité d'influence se traduit par l'apparition et la disparition de zone d'advection concentrée au cours du temps. En effet, les points 44 et 45 mesurés en 1998 étaient caractérisés par une forte concentration en sel ($1700 \mu\text{S cm}^{-1}$, Wiggli *et al.*, 1998), alors qu'en septembre 2005 ces mares étaient très peu concentrées ($300 \mu\text{S cm}^{-1}$) et n'était pas sous l'influence d'une forte évaporation. De plus, une advection n'est pas influencée par la mésotopographie à la surface du sédiment et par conséquent les mares ayant un parcours d'eau différent, mais étant spatialement proches, peuvent être influencées par une même advection (ex.: pts. 33 et 117).

L'eau de pluie se caractérise généralement par une faible salinité et un pH moyen de 5. Des valeurs identiques ont été mesurées dans l'eau des mares du centre de la tourbière (pts. 28-30, 98-101, 47-51, 148-149 et 160), ce qui indiquerait un approvisionnement exclusif de ce secteur par des eaux de pluie.

Figure 4: Carte de synthèse regroupant la dynamique hydrique de la tourbière au cours d'une saison et la présence/absence continue de tapis microbiens.
Les points en rouge indiquent les positions où des tapis microbiens ont toujours été observés.





Haut-marais acide et bas-marais alcalin

Les cours d'eau en périphérie de la tourbière se caractérisent par une eau d'origine dolomitique chargée en sels. On y trouve des plantes telles que *Saxifraga aizoides*, *Parnassia palustris* et *Primula farinosa*, représentant une végétation différente de celle du centre de la tourbière et caractéristique de l'association du *Caricion davallianae*. L'ensemble de ces informations permet de caractériser l'extérieur du marais de Cadagno comme étant une tourbière, neutre à alcaline, à végétation de bas-marais (BMal) (Delarze *et al.*, 1998; Gobat *et al.*, 2003).

La flore se développant au centre de la tourbière est constituée d'un mélange entre deux associations que sont le *Caricion fuscae* et le *Rhododendro-Vaccinion*. Cette végétation est caractérisée par des espèces différentes comme *Saxifraga stellaris*, *Nardus strictus*, *Drosera longifolia*, *Carex nigra*, *Eriophorum vaginatum*, *Sphagnum sp.* et *Vaccinium myrtillus* (Delarze *et al.*, 1998, Gobat *et al.*, 2003).

Le centre du marais de Cadagno est donc une tourbière acide à végétation de haut-marais (HMac). Son alimentation se fait par les eaux météoriques qui sont piégées dans le sédiment organique (Gobat *et al.*, 2003). Le centre de cette tourbière est donc considéré comme un réservoir d'eau de faible salinité (figure 5).

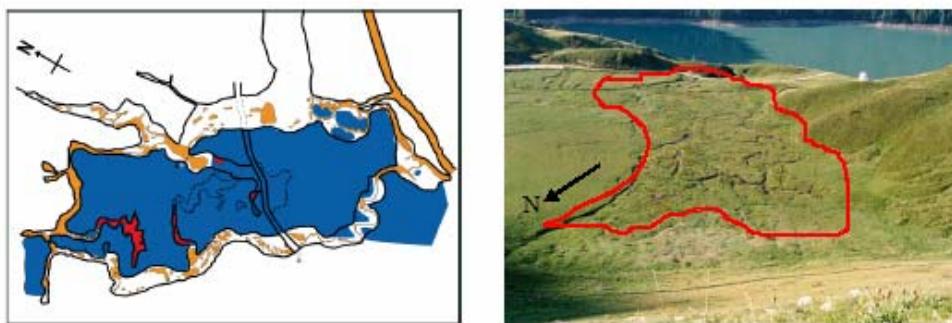


Figure 5: Tourbière de Cadagno et ses deux sous-systèmes hydrique. A gauche, dessin de la tourbière de haut-marais (bleu) et de mares (rouge) entourée par la tourbière de bas-marais (orange). A droite, photographie de la tourbière.

Dynamique hydrique

L'ensemble des mesures d'électroconductivité est représenté sous forme de graphique (figure 6). Le lissage des données, par estimateur à noyau, prend en compte la moyenne mobile de chaque point. Pour représenter de façon cohérente les données en fonction du flux d'eau entre les points de mesure, les mares ont été regroupées de la manière suivante:

1 à 27	= groupe 1	47 à 51	= groupe 5	113 à 131	= groupe 9
28 à 30	= groupe 2	52 à 81	= groupe 6	132 à 146	= groupe 10
31 à 41	= groupe 3	82 à 94	= groupe 7	147 à 149	= groupe 11
42 à 46	= groupe 4	95 à 112	= groupe 8	150 à 175	= groupe 12

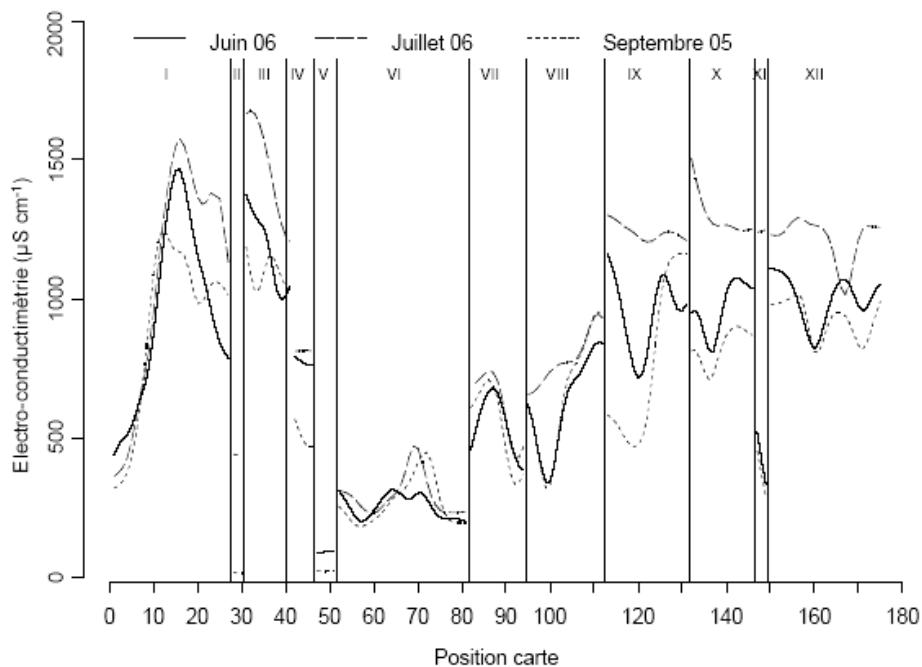


Figure 6: Valeurs de conductimétrie des trois campagnes de mesure en fonction de leur position sur la carte. La "grandeur" (bandwidth) du groupe pris en compte dans le programme S-Plus, pour chaque point, est de 5. Les mesures de chaque campagne ont donc été superposées sur le même graphique.

Évaporation et conséquences

De manière générale, l'électroconductivité est plus élevée en juillet (cf. courbe juillet dans la figure 6). L'évaporation de l'eau des mares peu profondes conduit à une concentration de sel et à une augmentation de l'électroconductivité (pts. 33, 116-121). Cependant, les mares profondes et proches d'une résurgence ne semblent pas affectées par ce phénomène (pts. 12, 14, 17). Les points 47-51, 101 et 160 sont de type HMac. Ces mares étant asséchées au mois de juillet, nous pouvons dire que le volume d'eau du réservoir HMac est très faible en été. Cet assèchement estival se répercute directement sur la chimie des eaux de contact entre HMac et BMal.

Zones de contacts et évolution du site

Le bas-marais est disposé en fer à cheval autour de la tourbière de haut-marais. Par conséquent il y a des zones de contacts entre ces deux types d'eaux (figure

5). Un des principes d'une tourbière de haut marais est que la seule entrée d'eau est l'eau de pluie (Gobat *et al.*, 2003). Les eaux de résurgences du bas marais sont donc diluées par l'eau du centre du marais. Ce phénomène a pour conséquence la dilution de l'eau chargée en ions depuis la résurgence vers l'aval, jusqu'à un nouvel apport d'ions par une autre résurgence ou zone d'advection. Dans ce cas, le réservoir d'ions sulfates est constitué par l'eau de résurgence qui coule en surface du sédiment, ce qui se traduit par une concentration plus élevée que dans l'eau contenue dans le sédiment (tableau 1). Les principales zones de contacts se trouvent aux points 47 à 51, 149 à 148 et 28 à 29. L'eau des points 47 à 51 influence l'eau des points 33 et 34, mais pas réciproquement: quand la mare est en eau, elle se déverse dans le bras 31-37. En revanche, quand la mare est asséchée l'eau du bras 31-37 ne s'y déverse pas. Pour les points 28-29 et 149-148 il en va différemment. En fonction de la saison, soit l'eau du haut-marais (pt. 149, figure 4) en sort, soit l'eau du bas-marais y entre.

Tableau 1: Comparaison de la concentration en sulfate entre l'eau de surface et l'eau interstitielle du sédiment ("s").

Points de mesures	Sulfate (mg l ⁻¹)
20	489
20s	417
155	494
155s	440
158	505
158s	295

Les mares du groupe 6 (figure 4) constituent la zone de plus faible électroconductivité de l'ensemble du site d'étude (entre 120 µS cm⁻¹ et 350 µS cm⁻¹) et restent homogènes tout au long de l'année.

Ce site est à une altitude de 1900 m ce qui correspond à un climat insubrien (fortes pluies en été). Cela s'ajoute au fait qu'à cette altitude, l'hiver se prolonge jusqu'au mois de juin. Le système est ainsi soumis à un apport important en eaux météoriques, qui transitent par la dolomie et sur les roches cristallines, ou s'accumule dans le HMac. Cet apport d'eaux est déterminant pour la survie du système "tourbière". La quantité d'eau retenue par le sédiment organique du HMac assure la conservation de l'anoxie dans ce dernier. Comme conséquence directe l'anoxie conserve les stocks de matière organique et les organismes qui lui sont associés (Gobat *et al.*, 2003). Si les pluies diminuent, l'évaporation et l'assèchement estivaux seraient fatals pour le sous système haut-marais qui serait alors amené à disparaître.

Grâce à ce caractère de réservoir, le système de Cadagno peut persister à travers le temps en tant que système double. À travers l'évolution de la superficie de la zone 47-51 ainsi que des variations d'électroconductivité et de composition ionique de la zone 149-148, on peut qualifier et quantifier l'influence respective de ces deux eaux afin de pouvoir en prévoir l'évolution. L'étude des zones de contacts permettent d'évaluer l'évolution et le renouvellement du réservoir d'eau de haut-marais. Elle assure aussi le monitoring de la tourbière en vue d'un projet de protection.

Ce système est directement dépendant du microclimat pour sa fragile pérennité. On peut ainsi le considérer comme un site sentinelle, un miroir du climat et ces changements, qu'il serait important d'étudier de manière plus approfondie.

4. Les tapis microbiens dans la tourbière

La position et le recouvrement de chaque tapis du site ont été reportés sur une carte toutes proportions gardées. Les trois périodes de terrain furent choisies pour permettre de connaître la répartition des tapis en fonction des principales périodes du cycle reproductif de la flore alpine, dont la durée moyenne est de trois à quatre mois. La présence de tapis a été associée aux points de mesure et notée par un "1" et l'absence par un "0".

Présence de tapis et chimie des eaux

La même démarche graphique par groupe de mares a été appliquée à la présence ou l'absence de tapis microbiens (figure 7).

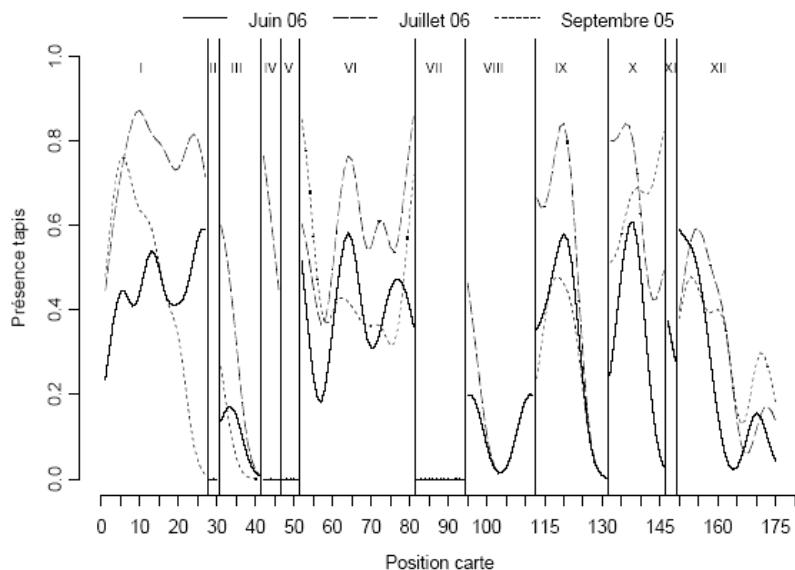


Figure 7: Présence lissée des tapis microbiens en fonction de la position dans le site. La "grandeur" (bandwidth) du groupe pris en compte dans le programme, pour chaque point, est de 7. Une plus petite largeur ne permet pas d'observer de réelle tendance et une valeur plus grande gomme toutes variations.

Neuf zones homogènes toujours colonisées et 11 zones homogènes jamais colonisées peuvent être dégagées de la figure 7. On constate alors que 50,1 % des mares ne sont jamais colonisées, que 32,6 % sont variablement colonisées (1 à 2 fois pendant l'année) et que 17,1 % des mares le sont toujours (tableau 2).

Tableau 2: Proportion de mares colonisées par des tapis microbiens en fonction des périodes de l'année

	Nombre de mares colonisées sur 175 au total	Pourcentage de mares colonisées
Mare toujours colonisée	30	17,1
Mare variablement colonisée	57	32,6
Mare jamais colonisée	88	50,3
Juin	45	26
JUILLET	75	43
Septembre	53	30

Ensuite, ces données de stabilité ont été reportées sur la carte d'homogénéité des eaux. La superposition des informations permet de visualiser les zones homogènes ou variables en corrélation avec une absence ou une présence continue de tapis (figure 4).

Les zones ne possédant pas de développement microbien regroupent quatre types de dynamiques hydriques:

- Les zones de tourbière dont les mares s'assèchent en été
- Les zones de contacts entre les eaux de haut et bas marais
- Certaines zones homogènes de basse conductimétrie
- Certaines zones homogènes de haute conductimétrie

Les zones où l'on observe constamment des tapis microbiens sont, dans la majorité des cas, des zones stables. Cependant on trouve des tapis dans les deux types de zones homogènes: les zones de faible électroconductivité et les zones de forte électroconductivité.

- Dans la zone homogène de faible conductivité, la moyenne des eaux où sont toujours présents les tapis est de $261 \mu\text{S cm}^{-1}$ (médiane = $272 \mu\text{S cm}^{-1}$) alors que celle des régions jamais colonisées est de $198 \mu\text{S cm}^{-1}$ (médiane = $198 \mu\text{S cm}^{-1}$). Les mares qui n'ont jamais développé de tapis correspondent au côté le

plus excentré de cette zone homogène, en contact direct avec la tourbière de haut-marais.

Un tapis microbien a donc un fort potentiel de développement dans une eau ayant une conductivité supérieur $200 \mu\text{S cm}^{-1}$; en dessous de cette valeur, aucune croissance ne sera observée.

- Dans la zone homogène de haute conductimétrie, la moyenne annuelle est de $994 \mu\text{S cm}^{-1}$ (médiane = $1040 \mu\text{S cm}^{-1}$). Les valeurs moyennes des zones perpétuellement colonisées et des mares jamais colonisées sont proches (1036 et $1075 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Dans les zones homogènes de haute conductimétrie, ce n'est ainsi pas cette variable qui permet de différencier les mares en permanence colonisées des bassins constamment dépourvus de tapis microbiens. En effet, l'établissement d'un tapis microbien dépend également de l'accessibilité à de la matière organique facilement dégradable, caractérisée par un rapport C/N inférieure à 15 (Gobat *et al.*, 2003). On constate pourtant que certains tapis microbiens se développent sur des sédiments ayant une qualité de matière organique faible. Dans ce cas de figure, les tapis sont toujours étroitement associés à la rhizosphère des plantes qui se développent dans les cours d'eau de la tourbière.

Types de tapis caractérisés

Macroscopiquement, les tapis se différencient par le nombre et la structure des couches qui les constituent. Chaque couche est caractérisée par une couleur, une épaisseur et par un type principal de processus. Par processus principal d'une couche on désigne la résultante de l'interaction des différents métabolismes qui s'y déroulent. Nous allons d'abord décrire les communautés structurantes puis représenter les types de tapis. Dans ce travail 6 groupes fonctionnels ont ainsi été établis (Dupraz et Visscher, 2005) permettant de caractériser quatre types de tapis dominant dans le marais de Cadagno:

- Un tapis brun: complexe, épais, résistant, avec peu de fibres organiques dans la matrice d'EPS, mais beaucoup en dessous (pt. 155)
- Un tapis blanc: complexe, épais, résistant, avec des fibres organiques prises dans la matrice d'EPS (pt. 158)
- Un tapis pourpre: simple, fin, matrice d'EPS peu présente, peu cohérente et sans fibre organique (pt. 7)
- Un tapis blanc: simple, fin, cohérent sans fibre organique prise dans une matrice d'EPS (pt. 20)

Un code a été établi pour représenter les différentes couches permettant de caractériser chaque type de tapis:

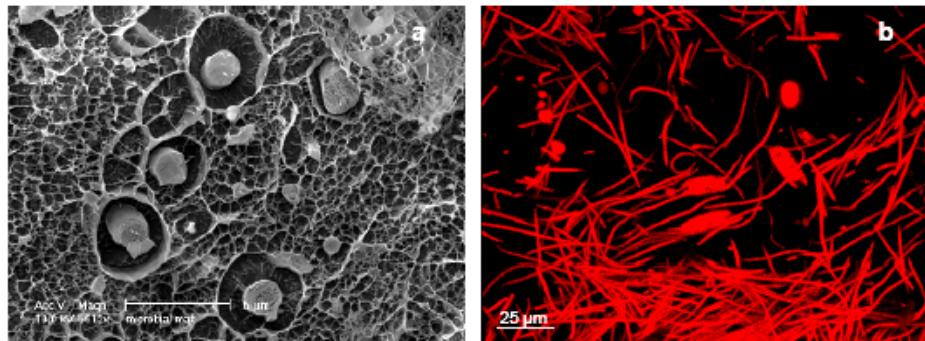
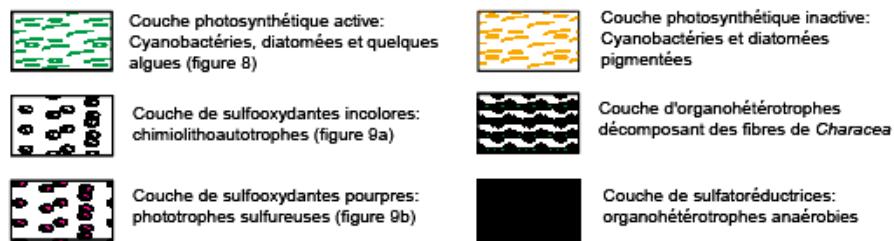


Figure 8: Tapis Brun Complexe. **a)** L'image prise avec un Cryo-SEM (SEM à basse température) montre les filaments cyanobactériens, à l'intérieur de leur gaine mucilagineuse, pris dans une matrice d'EPS. **b)** Image obtenue par microscopie confocale qui représente les cellules actives du point de vue de la photosynthèse oxygéniques (fluorescence de la chlorophylle-a).

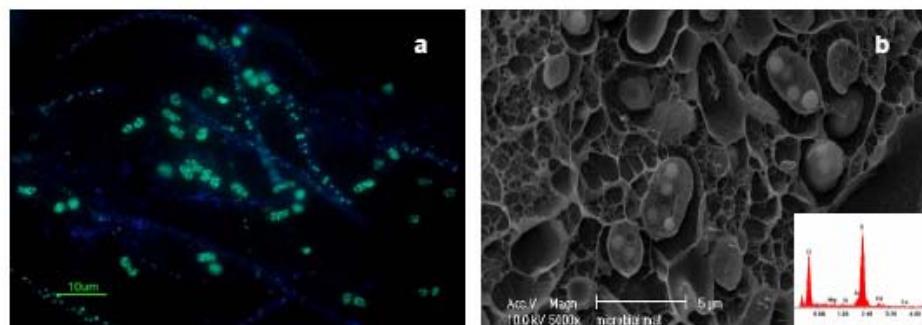
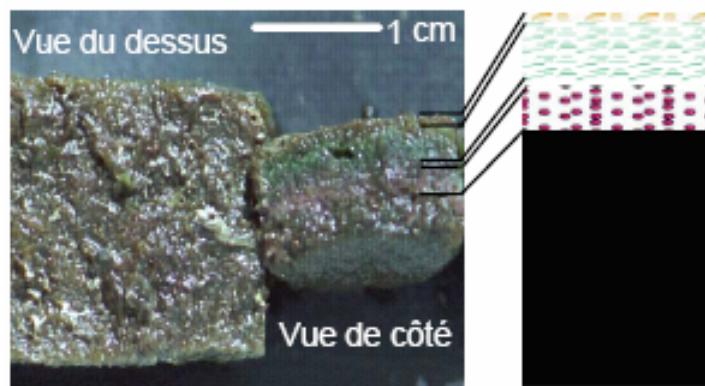


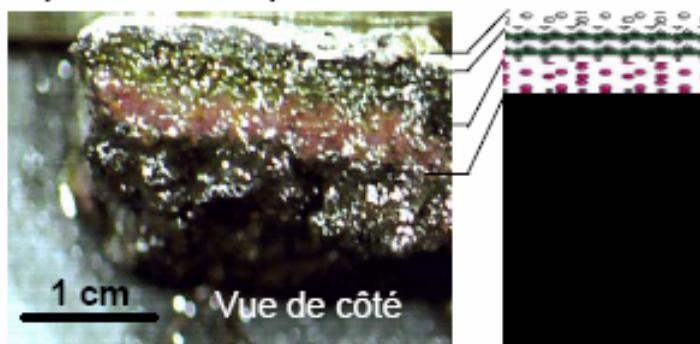
Figure 9: **a)** Bactéries sulfoxydantes chimiolithoautotrophes filamenteuses et globuleuses. Dans cette préparation la coloration DAPI permet de voir les granules de soufre en vert lorsqu'elles sont excitées par la lumière UV du microscope à épifluorescence. **b)** Image Cryo-SEM de la couche pourpre d'un tapis microbien Brun Complex. On observe les bactéries phototrophes anoxygéniques avec des inclusions soufre élémentaire (XRD). Ces observations morphologiques ont permis de décrire les quatre types principaux de tapis microbiens comme suit:

Tapis Brun Complexé



Ce type présente une structure identique à la plupart des tapis microbiens décrits dans la littérature: une couche de protection contre les radiations suivie d'une couche à photosynthèse oxygénique, puis une couche de sulfoxydantes incolores continuée par une couche de bactéries phototrophes sulfureuses anoxygéniques et enfin la couche dominée par les bactéries sulfatoréductrices (Jørgensen *et al.*, 1987; Teske et Stahl, 2002).

Tapis Blanc Complexé



Ce tapis est constitué de 4 groupes fonctionnels majeurs: une couche de sulfoxydantes incolores suivie par une couche d'organohétérotrophes décomposant des fibres de *Characea* puis par une couche de phototrophes sulfureuses anoxygéniques pourpres et enfin par une couche dominée par les bactéries sulfatoréductrices. L'ensemble du tapis a une épaisseur de 0,8 à 1 cm. L'épaisseur de la couche 1 n'excède pas 500 µm.

Tapis Pourpre Simple



Ce tapis est composé de bactéries sulfureuses pourpres en surface, directement suivies de bactéries sulfatoréductrices. La cohérence du biofilm d'EPS synthétisé par les bactéries sulfoxydantes pourpres est faible car il est facile de mettre en suspension les bactéries qui s'y trouvent en y passant le doigt. C'est pourquoi il n'est pas possible de montrer une photographie en coupe de ce tapis car le sédiment n'est pas stabilisé comme dans le cas des tapis complexes. Le plus intriguant est que ce biofilm, théoriquement anaérobie se développe directement sous une épaisse couche de *Characeae* productrices d'oxygène.

Tapis Blanc Simple



Les tapis microbiens de type Blanc simple sont formés de deux groupes: des bactéries sulfoxydantes incolores en surface directement suivi de bactéries sulfatoréductrices. Les observations microscopiques ont permis de faire ressortir une différence entre les bactéries sulfoxydantes incolores de surface (type Blanc Simple et Blanc Complex) et les bactéries sulfoxydantes incolores qui se trouvent sous d'autres couches (type Brun Complex): Les couches de surface contiennent des bactéries sulfoxydantes incolores filamentueuses et en agrégats, tandis que les couches "profondes" ne présentent pas de bactéries filamentueuses.

Quatre types majeurs de tapis microbiens

Les quatre types de tapis microbiens décrits précédemment représentent quatre types macroscopiquement distincts, qui se diffèrentient également par leurs caractéristiques physiologiques et génétiques propres. En effet, ces tapis ont également été étudiés par des mesures de concentration en O₂, H₂S et pH, ainsi qu'avec des outils moléculaires. Ces deux approches complémentaires confirment que ces tapis sont bien des types distincts et ne représente pas les variations de facies d'un même type.

Les tapis Bruns Complexes sont les types le plus souvent rencontrés sur le site. Pour cette raison qu'il est difficile d'établir les exigences spécifiques nécessaires à leur établissement. Dans le cas des tapis Simples Pourpres, nous avons constaté qu'ils se développent toujours au même endroit, à la base de characées productrices d'oxygène (pt. 7, figure 3). Une advection concentrée ressort au point 7. Cette eau a traversé la couche organique avant d'arriver en surface elle et est ainsi anoxique et chargée en sulfure. Ce phénomène permet au tapis Pourpre Simple de se développer à proximité des characées tout en restant anoxique. Les Blancs Simples quand à eux se développent dans des cours d'eau chargés en sulfures où la profondeur reste faible et permet la création de microturbulences. Ces dernières autorisent un mélange de l'oxygène et du sulfure sur la faible épaisseur du film d'eau. Mais comme ces eaux sont très chargées en sulfure, leur réaction physicochimique avec l'air ambiant fait chuter la concentration en oxygène à un niveau où les bactéries sulfoxydantes se retrouvent en condition microaérobies et peuvent par conséquent oxyder le sulfure. Les exigences des tapis de type Blanc Complexes, doivent être très spécifiques et varier en fonction des années. En effet, ce type de tapis a été trouvé plusieurs fois, mais toujours en des lieux différents.

5. Conclusion

La tourbière de Cadagno est composée de deux sous-systèmes hydrologiques: un réservoir d'eau météorique de faible conductimétrie et un réservoir phréatique chargé en sels (Ca²⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻ et HCO₃⁻). Il résulte de leurs interactions trois classes de zone: une homogène de haute conductimétrie surtout sous l'influence des résurgences, une seconde homogènes de faible salinité essentiellement sous l'influence des eaux météorique et enfin une zones de conductimétrie variable. La dernière catégorie représente indirectement l'effet du climat sur la tourbière. Un monitoring de l'écosystème Tourbière via un suivi de ces zones variables permettrait d'évaluer le devenir du marais. Suivre ce site sentinelle permettrait d'évaluer l'impact des changements climatiques sur ce système très réactif qui en dépend directement.

A l'échelle des tapis, on constate qu'ils ne se développent jamais dans les eaux météoriques de tourbière mais préférentiellement dans les zones homogènes et stables. La présence continue de tapis dans des mares de faible conductimétrie a permis d'évaluer la conductimétrie minimum à partir de laquelle peut

s'implanter un tapis microbien ($200 \mu\text{S cm}^{-1}$). Les morphologies décrites correspondent bien à quatre types de tapis microbiens différents.

Bibliographie

- Awramik, S. M.** (1992) The history and significance of stromatolites. In: M. Schidlowski, M. M. Kimberley, D. M. McKirdy, P. A. Trudinger (Eds.), Early Organic Evolution. Implications for Energy and Mineral Resources. Springer, Berlin, pp. 435–449.
- Delarze, R., Y. Gonseth, and P. Galland.** (1998) Guide des milieux naturels de Suisse. BUWAL, Delachaux and Niestlé, Lausanne, Switzerland.
- Dupraz, C., and P. T. Visscher** (2005) Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. Trends Microbiol. 13:429-438.
- Farmer, J. D.** (2000) Hydrothermal systems: doorways to early biosphere evolution. GSA Today 10:1-10.
- Fischer, A. G.** (1965) Fossils, early life, and atmospheric history. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 53:1205-1215.
- Gobat, J.-M., M. Aragno, and W. Matthey** (2003) Une décomposition bloquée: de la sphaigne à la tourbe, p.289-318. Le sol vivant, Seconde édition. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, Switzerland.
- Grotzinger, J. P., A. H. Knoll** (1999) Stromatolites in Precambrian carbonates: evolutionary mileposts or environmental dipsticks? Annu. Rev. Earth Planet. Sci. 27:313-358.
- Hofmann, H. J., A. H. Grey, A. H. Hickman, R. I. Thorpe** (1999) Origin of 3.45 Gaconiform stromatolites in Warrawoona Group, Western Australia. Geological Society of America Bulletin 111:1256-1262.
- Jahnke, L. L., T. Embaye, J. Hope, K. A. Turk, M. Van Zuilen, D. J. Des Marais, J. D. Farmer, and R. E. Summons** (2004) Lipid biomarker and carbon isotopic signatures for stromatolite-forming microbial mat communities and *Phormidium* cultures from Yellowstone National Park. Geobiol. 2:31-47.
- Jørgensen, B. B., Y. Cohen, and D. J. Des Marais** (1987) Photosynthetic action spectra and adaptation to spectral light distribution in a benthic cyanobacterial mat. Appl. Environ. Microbiol. 53:879-886.
- Lows, S. and R. Wyss** (1999) Coupe géologique, Planbeilage 4. In Vorerkundung und Prognose des Basistunnels am Gotthard und am Lötschberg.
- Krige, L. J. and W. Van Holst** (1918) Carte géologique de la région de la vallée de Piora, Alpes Suisses.
- Riding, R.** (2006) Microbial carbonate abundance compared with fluctuations in metazoan diversity over geological time. Sedimentary Geology 185:229-238.
- Stoltz, J. F., D. B. Botkin, and M. N. Dastoor** (1988) The integral biosphere p.31-50. In M. B. Rambler, L. Margulis, and R. Fester (Eds.), Global Ecology: Towards a science of the biosphere. Academic Press, Boston, MA.
- Teske, A., and D. Stahl** (2002) Microbial mats and biofilms: Evolution, structure, and function of fixed microbial communities p.49-100. In J. T. Staley, and A.-L. Reysenbach (Eds.), Biodiversity of Microbial Life. Wiley-Liss, New York.

Visscher, P. T. and J. F. Stoltz (2005) Microbial mats as bioreactors: populations, processes, and products. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 219:87-100.

Walter, M. R., J. P. Grotzinger, and J. W. Schopf (1992) Proterozoic stromatolites. P.253-260 *In* J. W. Schopf, and C. Klein (Eds.), *The proterozoic biosphere*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Wieland, A., J. Zopfi, M. Benthien, and M. Kühl (2004) Biogeochemistry of an iron-rich hypersaline microbial mat. *Microb. Ecol.* 49:34-49.

Wiggli, M., A. Schenk, T. Horath, R. Stettler, L. Lüthy, D. Grüter, U. Buchs, A. Smallcombe, and R. Bachofen (1998) Chemical, physiological and molecular biological investigations in the microbial mats West of Cadagno in the Piora Valley. *In* R. Peduzzi, R. Bachofen, and M. Tonolla (Eds.), *Lake Cadagno: a meromictic alpine lake*. *Documenta Inst. Ital. Idrobiol.* 63:127-136.

V. Détection de *Diphyllobothrium latum* par génotypage moléculaire chez les hôtes intermédiaires de quatre lacs subalpins

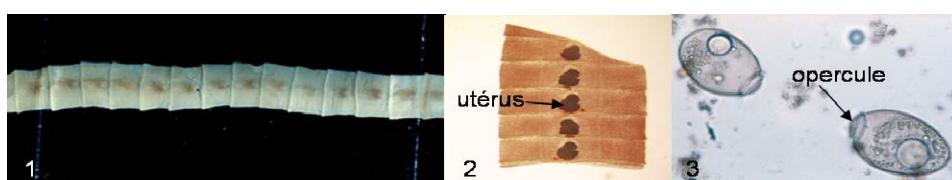
Barbara Wicht, Raffaele Peduzzi

1. Introduction

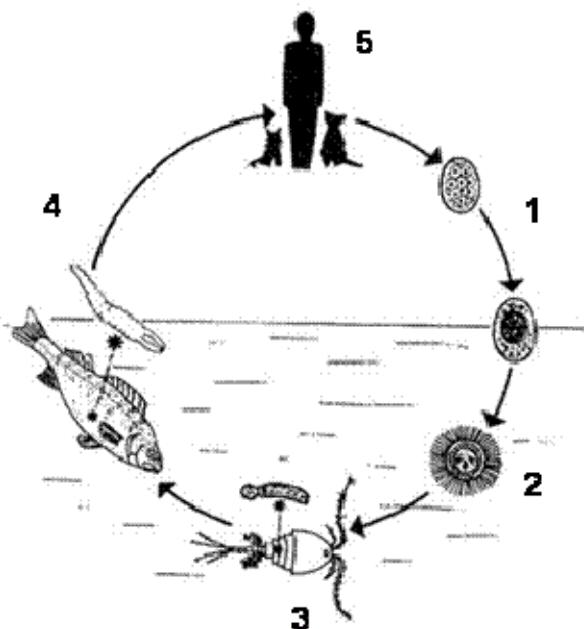
La diphyllobothriose est une taeniase due à *Diphyllobothrium* sp (Cestoda; Pseudophyllidea), un des plus grands cestodes pathogènes pour l'homme. La principale espèce à l'origine de la maladie est *Diphyllobothrium latum*, plutôt connue sous le nom générique de «grand ténia du poisson». *D. latum* est le plus long des vers solitaires, atteignant en moyenne dix mètres de longueur. Les adultes peuvent pondre jusqu'à un million d'oeufs par jour. *D. latum* infecte les poissons et les mammifères. Il est très proche du point de vue morphologique des autres membres du genre, qui comprend une quinzaine d'espèces, répertoriées pour être capables d'infecter des humains, comme par exemple *Diphyllobothrium dendriticum* («ténia du saumon»), qui a une zone d'endémie beaucoup plus étendue (la totalité de l'hémisphère nord). Au Japon, la plus répandue des espèces pathogènes est *D. nihonkaiense*, identifiée comme étant génétiquement distincte de *D. latum* en 1986 (Yamane *et al.*, 1986). On a répertorié plusieurs autres espèces de bothriocéphale susceptibles d'infecter l'homme, mais avec une fréquence moindre; parmi celles-ci, citons *D. pacificum*, *D. cordatum*, *D. ursi*, *D. lanceolatum*, *D. dalliae* et *D. yonagoensis* (Curtis et Bylund, 1991).

Diphyllobothrium latum

D. latum est une espèce cosmopolite. Chez les adultes, les proglottides sont habituellement plus larges que longs (fig. 1). Comme chez tous les cestodes de l'ordre des pseudophyllidés, les pores génitaux s'ouvrent au milieu du ventre (fig. 2). Les œufs ont un *operculum* typique (fig. 3). L'identification microscopique des œufs dans les selles est à la base du diagnostic spécifique. Les œufs sont souvent nombreux et peuvent être mis en évidence sans la nécessité de techniques de concentration. L'examen des proglottides éliminés dans les selles a également une valeur diagnostique.



Diphyllobothrium latum. 1: Adulte (proglottides); 2: Utérus central, en forme de rossette; 3: Oeufs operculés.



Le cycle du bothriocéphale comprend plusieurs hôtes intermédiaires. En eau douce, le **oeufs** (1) mûrissent et éclosent, en libérant la forme libre du parasite, le **coracidium** (2). Le coracidium nage librement et est ingéré par le zooplancton – en particulier les copépodes, dans lesquels il se transforme en **larve procercoïde** (3). Certaines espèces de poisson qui se nourrissent de zooplancton s'infectent par ingestion de copépodes contaminées. Dans ces poissons, la larve migre de l'appareil digestif aux muscles, où elle mue en **larve plérrocercoidé** (4). Les hôtes définitifs sont les mammifères qui mangent du poisson, notamment les êtres humains: si infectés par consommation de poisson cru ou mal cuit, le parasite se développe chez l'homme jusqu'au stade **adulte** (5). A ce point, le ver hermaphrodite produit une grande quantité d'oeufs – jusqu'à 1 million par jour, par hôte définitif. Les oeufs immatures passent dans les selles et atteignent les écosystèmes d'eau douce en passant à travers les STEP, qui n'arrivent pas à réduire efficacement la charge parasitaire: on a calculé que 5-10% des œufs arrive indemne dans nos lacs.

En Suisse, la diphyllobothriose existe dans le Lac Majeur (Bonini et al., 1998; Peduzzi et Boucher-Rodoni, 2001; Wicht, 2007), le Lac Léman (Nicoulaud *et al.*, 2005), le Lac de Morat et le Lac de Bienna (Golay et Mariaux, 1995). Les taux d'infection des poissons se situent entre 5 et 15% environ.

Au niveau de cas cliniques (humains), on remarque une recrudescence de la maladie surtout dans la région insubrienne (Peduzzi, 1990; Dupouy-Camet et Peduzzi, 2004) et dans le Canton de Genève (Jackson *et al.*, 2007; Wicht *et al.*, 2007).

Les taux d'infection du plancton sont difficiles à établir, en raison de nombreuses difficultés techniques: on ne dispose pas encore d'une méthode simple et efficace pour la détection de larves procercoides chez les premiers hôtes intermédiaires.

Le monitorage du bothriocéphale est donc important parce qu'il s'agit d'un parasite répandu au niveau clinique et vétérinaire, signalé dans notre région. Les symptômes de la parasitose comprennent nausée, diarrhée, troubles gastro-intestinales, crampes, etc., jusqu'à une grave forme d'anémie mégaloblastique (spoliation, carence de vitamine B₁₂). La diagnose se fait par détection d'oeufs caractéristiques ou de proglottides (segments du ver adulte) dans les selles des patients. La maladie est soignée avec succès et généralement sans conséquences en administrant du praziquantel.

Afin de prévenir la contamination, il est recommandé d'éviter la consommation de poisson cru ou mal cuit, en particulier perche (*Perca fluviatilis*), brochet (*Esox lucius*), lotte (*Lota lota*) et ombles (*Salvelinus* sp). Si bien cuit, le poisson contenant une ou plusieurs larves plérocercoïdes peut être consommé sans dangers. La cuisson à 55 °C pendant au moins 5 minutes et la congélation à -10 °C pendant 8-72 heures (suivant l'épaisseur du filet) tuent le parasite.

2. Monitorage de *Diphyllobothrium* chez les hôtes intermédiaires

Dans le cadre d'un travail de doctorat à l'Université de Genève, en cours à l'Istituto Cantonale di Microbiologia de Bellinzona, on étudie les parasites du genre *Diphyllobothrium*, et le taux d'infection chez les hôtes intermédiaires (zooplancton et poissons) dans 4 lacs de la région subalpine: le zooplancton a été observé dans les lacs Majeur et Léman et les poissons dans les lacs Majeur, Léman, Lario et Ceresio.

2.1 Zooplancton (larves procercoides)

Dans les lacs Majeur et Léman, la diphyllobothriose est une parasitose connue et diffuse. Pour déterminer le taux d'infection au niveau du zooplancton, des échantillonnages saisonniers ont été conduits à l'aide d'un filet à plancton avec une maille de 200 µm. La recherche de *Diphyllobothrium* a été effectuée par observation des copépodes et analyse moléculaire des parasites y contenus.

Le zooplancton a été d'abord déterminé afin de séparer les copépodes (*Mixodiaptomus laciniatus*, *Eudiaptomus padanus*, *Cyclops abyssorum*), premiers hôtes intermédiaires du bothriocéphale, des cladocères (*Daphnia* sp, *Bosmina* sp, *Leptodora kindtii*, *Bythotrephes longimanus*).



Cyclops (gauche) et *Daphnia* (droite).

La détermination de l'état d'infestation des copépodes contenus dans chaque échantillon a été effectuée *in vivo* (Wedekind *et al.*, 2000): les copépodes ont été anesthésiés avec de l'eau gazéifiée, triés et observés individuellement au binoculaire (agrandissement 60x). Les individus contenant des larves ont été tués afin d'extraire le parasite. Le parasite et son hôte ont été conservés séparément. Le zooplancton non parasité de chaque échantillon a aussi été conservé en éthanol, pour permettre le successif comptage total des copépodes.



Copépode *Macrocylops albidus* infesté par *Schistocephalus solidus* (gauche). Copépode *Cyclops abyssorum* parasité par *Proteocephalus percae*, isolé du Lac Majeur (Muralto, 26.9.2005; droite).

Soit les parasites isolés, que différentes portions aliquotes de zooplancton ont été analysés par des techniques moléculaires. L'ADN extrait a été testé par PCR (Polymerase Chain Reaction) en utilisant des amores pour l'amplification des gènes codant pour la Cytochrome *c* Oxydase subunit I (gène COI), ainsi que pour l'unité 18S de l'ADN ribosomal (gène ARNr 18S). Les deux couples d'amores sont spécifiques aux Cestodes.

gène/région	amorce F (5' > 3')	amorce R (5' > 3')	référence
COI (~ 440 bp)	JB3	JB4.5	Bowles <i>et al</i> /1992
ARNr 18S (~ 2100 bp)	91	81	Mariaux, 1998

Le séquençage des gènes amplifiés a permis l'identification des parasites présents dans les copépodes, par comparaison avec les séquences de référence disponibles dans la banque des données publique GenBank.

2.2. Poisson (larves plérhocercoides)

Dans les lacs Majeur, Lario, Ceresio et Léman plusieurs centaines de perches (l'espèce principale parmi les deuxièmes hôtes intermédiaires dans notre région), ont été échantillonnées de façon saisonnière et examinées. Les larves plérhocercoides sont aisément visibles dans la musculature des poissons au niveau de la nuque, du ventre, le long de la colonne vertébrale, mais le plus souvent dans les filets. De couleur blanchâtre, elles ont une longueur entre 2 et 20 mm.



Diphyllobothrium latum dans filet de perche, issu du Lac Majeur (Baveno), 22.9.2005 (gauche); deux larves plérhocercoides dans filet de perche, issu du Lac Majeur (Ronco s/A), 11.10.2005 (droite).

Les larves plérhocercoides ont été aussi analysées par PCR avec amores spécifiques et séquençage des gènes COI et ARNr 18S.

3. Discussion

Les taux d'infection des copépodes par *Diphyllobothrium*, concernant les périodes, les stations d'échantillonnage et les hôtes choisis demeurent négatifs dans les lacs Majeur et Léman (voir aussi Hanelova et Gerdeaux, 2003). Les parasites isolés, identifiés par séquençage, appartiennent au genres *Proteocephalus* et *Acanthocephalus*.

La technique de PCR sur de grands peuplements zooplanctoniques, sans triage préalable des copépodes, est en train d'être mise au point pour permettre, par la suite, l'analyse d'autres échantillons collectés dans le Lac Majeur. Peut-être en effet que la morphologie des bothriocéphales à l'intérieur des premiers hôtes intermédiaires ne permette pas leur détection au binoculaire; problème qui pourrait être résolu avec les techniques moléculaires utilisant des amores spécifiques au parasite recherché.

Les taux d'infection des perches s'élèvent à présent à 14.4% dans le Lac Majeur, 0% dans le Ceresio, 8-12% dans le Léman et 11% dans le Lario (voir aussi Nicoulaud *et al.*, 2005; Wicht, 2007; Gustinelli *et al.*, 2007). Ces pourcentages doivent cependant être confirmés par des échantillonnages successifs (l'étude se terminera fin 2008). Une fois établies les dynamiques saisonnières des infestations, on pourra analyser les différents taux d'infection en corrélation avec les paramètres biotiques (composition du zooplankton) et abiotiques (température, teneur en oxygène, degré d'eutrophisation) des lacs étudiés.

Bibliographie

- Bonini P, Montorfani S, Peduzzi R et Renon P.** (1998) Situazione della plerocercosi nei laghi insubrici italo-svizzeri. *Ob e Doc Vet* 4:65-71.
- Bowles J, Blair D et McManus DP.** (1992) Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol* 54(2):165-173.
- Curtis MA et Bylund G.** (1991) Diphyllobothriasis: fish tapeworm disease in the circumpolar north. *Arctic Med Res* 50(1):18-24.
- Dupouy-Camet J et Peduzzi R.** (2004) Current situation of human diphyllobothriasis in Europe. *Euro Surveill* (9):31-35.
- Golay M et Mariaux J.** (1995) Situation de *Diphyllobothrium latum* L., 1758 (Cestoda : Pseudophyllidea) dans quatre lacs du Plateau suisse. *Bull Soc Neuch Sci Nat* 118:79-86.
- Gustinelli A, Invernizzi S, Kuchta R et Fioravanti ML.** (2007) Fish-borne parasitic zoonoses : recrudescence of diphyllobothriasis in Como lake, Northern Italy. International Symposium of Fish Parasites, Viterbo, 24-28 septembre 2007.
- Hanelova, V et Gerdeaux, D.** (2003) Seasonal occurrence of the tapeworm *Proteocephalus longicollis* and its transmission from copepods intermediate host to fish. *Parasitol Res* 91(2):130-136.

- Jackson Y, Pastore R, Sudre P, Loutan L et Chappuis F.** (2007) Outbreak of *Diphyllobothrium latum* following a wedding dinner in Geneva, Switzerland. 1st Three Countries Joint Meeting, Physiopathology of Intracellular Parasitic Diseases, Strasbourg, 13-16 juin 2007.
- Mariaux J.** (1998) A molecular phylogeny of the Eucestoda. *J Parasitol* 84(1):114-124.
- Nicoulaud J, Yéra H et Dupouy-Camet J.** (2005) Prévalence de l'infestation par *Diphyllobothrium latum*, L., 1758 chez les perches (*Perca Fluviatilis*) du Lac Léman. *Parasite* 12 :362-4.
- Peduzzi R.** (1990) Résurgence de la bothriocéphalose (parasitose à *Diphyllobothrium latum*) dans la région du lac Majeur. Signalement de 18 cas chez l'homme. *Méd Mal Infect* (20):493-497.
- Peduzzi R et Boucher-Rodoni R.** (2001) Resurgence of human bothriocephalosis (*Diphyllobothrium latum*) in the subalpine lake region. *J Limnol* 60(1): 41-4.
- Wedeckind C, Christen M, Schärer L et Treichel.** (2000) Relative helminth size in crustacean hosts: in vivo determination, and effects of host gender and within-host competition in a copepod infected by a cestode. *Aquatic Ecol* 34(3):279-85.
- Wicht B.** (2007) Monitorage et génotypage de *Diphyllobothrium latum* dans le Lac Majeur et d'autres lacs suisses. Diplôme Études Approfondies en parasitologie et microbiologie, Faculté des Sciences, Université de Genève. Année Académique 2005-2006.
- Wicht B, de Marval F et Peduzzi R.** (2007) *Diphyllobothrium nihonkaiense* (Yamane *et al.*, 1986) in Switzerland: first molecular evidence and case reports. *Parasitol Int* 56:195-9.
- Yamane Y, Kamo H, Bylund G et Wikgren B-J.** (1986) *Diphyllobothrium nihonkaiense* sp. nov. (Cestoda: Diphyllobothriidae) – revised identification of Japanese broad tapeworm. *Shimane J. Med Sci* 10: 29-48.

VI. A brief introduction to diapause in freshwater zooplankton with reference to the interest of studying diapause patterns in high mountain lakes

Nicoletta Riccardi

1. Introduction

The fluctuations over time of zooplankton population densities are determined by variations in the environmental conditions and are ultimately the result of the balance of birth and death rates. Species distribution and abundance is limited by abiotic conditions (e.g. temperature, pH, and oxygen distribution) and by biotic factors affecting population dynamics. Among these factors a primary role is recognized to nutritional conditions, that is the availability of food in adequate quantity and quality. Food quantity and quality is determined by several factors, including particle size (e.g. Lürling and VanDonk, 1996), chemical and biochemical composition (e.g. Müller-Navarra, 1995; Urabe & Sterner, 1996; Gulati & DeMott, 1997) and is obviously affected by intra- and interspecific resource competition. Predators also play a major role in structuring zooplankton communities in lakes both in directly limiting prey populations (e.g. Dodson, 1972; Fedorenko, 1975; Neill 1984, Hanazato & Yasuno, 1989) and in altering, through size selective removal of individuals, the size and age structure as well as the dynamics of prey populations (e.g. Neill, 1981; Mumm, 1997).

In addition, adaptive responses of zooplankton to the above mentioned environmental factors at the individual level can have important effects at the population level, affecting temporal and spatial distributions (e.g. Luaridsen et al., 1997; Hansen & Hairston, 1998). Such responses can be expressed as morphological, behavioural or life history changes. As an example, prey populations can react to predator pressure by developing morphological or behavioural defences, as well as by adjusting their life-history strategies to become less susceptible to the predator. Morphological responses of some *Daphnia* species to invertebrate predators (e.g. *Chaoborus* larvae) chemical cues include the production of neck spines, enlarged helmet crests or elongated tail spines (e.g. Krueger & Dodson, 1981; Havel, 1987; Repka et al.; 1995), which seem to reduce prey vulnerability by lowering predator's perception and strike efficiency and/or by increasing prey's escape ability (e.g. Mort, 1986; Swift, 1992). Behavioural responses include changes in swimming behaviour, swarming, distribution within the water column and can be expressed in response to food distribution (e.g Larsson, 1997), competitors (e.g Leibold, 1991), predators (e.g. Ringelberg, 1991; Lampert, 1993; Reede, 1997). Variations in life-history strategies can be induced in response to competition (e.g. Declerck et al. 2003) and predation (e.g. Black & Dodson, 1990; Lampert, W., 1994) as well as to the deterioration of environmental conditions. Of the life history characters affected by environmental factors, dormancy is one of the

more conspicuous among zooplankton. Dormancy is a way to escape periods of harsh environmental conditions caused by abiotic or biotic factors (e.g. Hairston & Olds, 1987; Libman & Threlkeld, 1999; Hairston, 1987; Slusarczyk, 1995). The term encompasses both quiescence and diapause.

Quiescence is a reversible cessation of development directly induced and maintained by the occurrence of adverse environmental conditions. This state consists of several levels of metabolic slow down, from a slow form of living with residuals movements of the body to an apparent absence of life. Animals can enter quiescence at any age, and do not need to produce specific dormant stages; this state is promptly broken once the unfavourable condition is removed.

By contrast, diapause necessitates the presence of specific ontogenetic phases, like resting eggs in several invertebrates. Resting eggs production is induced by a variety of stimuli (e.g. population density, temperature, photoperiod) that are directly or indirectly predictive of environmental deterioration. Diapause is temporarily irreversible, and its duration may greatly exceed the duration of the harsh period (e.g. Hairston et al., 1995). It is terminated by a specific trigger that does or does not correspond to the return of favourable conditions.

2. Zooplankton life cycles

Representatives of all freshwater zooplankton taxa can perform one or both the types of dormancy. The types of resting stages in freshwater zooplankton are reviewed in Gilbert (1974), Wiggins et al. (1980), Fryer (1996), Hairston & Cáceres (1996), Cáceres (1997), Ricci (2001), Gyllström & Hansson (2004). Here we briefly introduce the life-cycles of these taxa.

2.1. Cladocera

Cladocerans are cyclic parthenogens which reproduce asexually through most of the growing season, giving rise to the clonal structure of lake populations. Individual females are able to produce both parthenogenetic and sexual eggs. The parthenogenetic eggs are produced ameiotically, resulting in offsprings that are genetic replicates of their parent (Hebert & Ward, 1972). Since sex is determined by environmental factors these eggs may develop into either males or females. Except for some species/populations which are obligate parthenogens (e.g. Hebert, 1981), sexual reproduction periodically occurs with the production of parthenogenetically derived males which are needed for the fertilization of sexual eggs. By contrast in obligate parthenogens, such as some *Daphnia* species, ephippial eggs can be produced without meiosis and do not require male fertilization (e.g Hebert, 1981; Hebert & Crease, 1983). Some species of cladocerans shed their diapausing eggs freely (Fryer, 1996; Korovchinsky & Boikova, 1996), but most cladoceran diapausing eggs are enclosed within a protective envelope, termed an ephippium. The ephippium

consists of a modified part of the carapace that is shed as the mother moults. The shape of the ephippium, as well as the number and orientation of eggs inside the ephippium, varies between species (but rarely within) (Fryer & Frey, 1981; Fryer, 1996).

2.2. Copepoda

Free-living copepods reproduce sexually and are generally not capable of parthenogenesis. However, some rare exceptions to this rule are known among Harpacticoids and Calanoids. Post embryonic development includes 5 (commonly in cyclopoids) to 6 naupliar stages (calanoids) followed by 5 copepodite stages before reaching sexually mature adult stage.

Both types of dormancy forms occur in copepods: dormant individuals (larval, juvenile or adult stages; typically in cyclopoids and some species of calanoids) and diapausing eggs (in calanoids). Quiescence is a common strategy in freshwater cyclopoids and principally occurs in late copepodite stages (C4 and C5, e.g. Elgmork, 1980) and sometimes in earlier copepodite stages (C2 and C3; e.g. Elgmork, 1981). Early larval dormancy occurring at naupliar stages was only found for a few marine and freshwater species of both cyclopoids and calanoids (Alekseev, 2007). Adult females, and even fertilized adult females, can also enter a quiescent state (e.g. Elgmork, 1967; Naess & Nilssen, 1991). Adult diapause was initially found in Harpacticoids (*Canthocamptus staphilinus*) (Donner, 1928). The females endure unfavourable conditions in a gelatinous cyst, which is secreted by skin glands known for Copepoda.

While cyclopoids have never been reported to produce diapausing eggs (Alekseev & Starobogatov, 1996), the typical dormant stage of calanoids is diapausing eggs. Diapausing egg production have been observed in both marine and freshwater species, but in these latter it seem to be a more common strategy (Hairston & Kearns, 2002). Diapausing eggs differ from subitaneous eggs in the structure of envelope (Champeau, 1970; Hairston & Olds, 1984). While in some species of marine calanoids (e.g. *Acartia* species and *Pontella mediterranea*) diapausing eggs differ from the subitaneous eggs in having spines and larger size (e.g. Grice & Gibson, 1981; Belmonte & Puce, 1994), those produced by other species are indistinguishable in gross form and size although there are differences at the histological level (e.g. Kasahare & Uye, 1979; Marcus & Fuller, 1986; Ianora & Santella, 1991). One major histological difference between the two types of eggs is often the presence of a thicker chorion in the diapause egg (Ban & Minoda, 1991; Ianora & Santella, 1991; Lindley, 1992).

2.3. Rotifera

Dormancy of the rotifers was extensively reviewed by Gilbert (1974) and, more recently, by Ricci (2001). Phylum Rotifera comprises three classes: Seisonidea, Bdelloidea and Monogononta. Seisonidea are marine, their biology is mostly unknown, and the presence of dormancy in this class has never been

investigated. Monogononta and Bdelloidea consist mostly of freshwater animals that reproduce parthenogenetically. Rotifers are cyclic parthenogens with an asexual amictic cycle and a sexual mictic cycle which periodically occurs to produce resting eggs. The reproduction cycle of Monogononts resembles that of cladocerans, but males are haploid and develop from unfertilized haploid eggs produced by mictic females. If the eggs are fertilized, they develop into diapausing eggs. Rotifer diapausing eggs are ovoid or spherical in shape and have a thick, dark, opaque shell that often has species specific, external ornamentation in the form of knobs or spines. Parthenogenetic diapausing egg production (called pseudo-sexual eggs) has also been found in Monogonont species *Keratella hiemalis* (Ruttner-Kolisko, 1946). Another type of monogonont dormant egg has been described in *Synchaeta pectinata* (Gilbert, 1995). It was called "diapausing amictic egg" and it has characteristics similar to the subitaneous amictic egg, but it has a thicker shell and contains the embryo arrested at first cleavage division. Its production is induced by starvation or low food availability (Gilbert & Schreiber, 1995, 1998). It resumes development after a fixed interval, regardless of external conditions, but the mandatory dormant period is much shorter than that usually required by the bisexualy-produced resting eggs. As a response to different conditions, *S. pectinata* may be able to produce both types of diapausing eggs and, so far, this species seems to be the only one capable of two forms of dormancy.

Unlike monogononts, bdelloids cannot produce diapausing eggs but they can enter a particular form of dormancy (quiescence), called anhydrobiosis, either as eggs or embryos, juveniles or adults (Ricci, 1998). Anhydrobiosis essentially consists in the loss of internal water in response to the evaporation of water in the environment. In preparation for the anhydrobiotic condition, a sequence of morphological and metabolic adjustments is followed, which allows the rotifer to enter anhydrobiosis properly. The metabolism of the dessicating animal is known to slow down until it is undetectable, and an osmo-protectant molecule, threalose, is synthesized and stored. In contrast to monogonont diapausing eggs, dormancy of the anhydrobiotic rotifer, either egg or animal, is promptly broken by the return of water to the environment, and the animal resumes activity into a few hours.

3. Ecological significance of diapause

Diapause is a common mechanism employed by short-lived organisms for persistence in a variable environment. For this kind of organisms, such as freshwater zooplankters, the ways of coping with years of local recruitment failure is either to disperse between habitats and recolonize or to disperse in time through diapause. A diapausing stage could, however, act as both a temporal and spatial dispersal vector and the ability to produce diapausing stages may have been what allowed colonization of freshwater habitats from the marine environment (Hairston & Cáceres, 1996; Hairston & Bohonak, 1998).

3.1. Escape in space

Enlarging the distribution area of the species, colonization of new environments is a safeguard against species extinction. Production of resistant propagules (eggs, cysts, gemmules or statoblasts) (embryonic diapause *sensu* Alekseev & Starobogatov (1996) has been frequently considered as an adaptation for dispersal (e.g. Korovchinsky & Boikova 1996; Hairston 1998; Brendonck & Riddoch 1999; Bilton *et al.* 2001;). Indeed, the ability of diapausing stages to withstand extreme physical conditions make them an excellent means of geographic dispersal. Many studies enlightened the tolerance of diapausing eggs to stressful conditions, such as dessication, freezing, heating and exposure to toxicant and harmful substances (for a review see Ricci, 2001; and Gyllström & Hansson, 2004). Such a resistant propagule can be easily transported without damages by natural as well as by human-mediated vectors (e.g. Panov and Cáceres, 2007) even over very long distances and through geographic barriers. The role recognized to diapausing stages in the increasing phenomenon of the human-mediated transfer of alien species at least partially accounts for the increasing interest in studies focused on the factors affecting diapausing stages survival and on the relative importance of potential vectors. A particular aspect is represented by exobiology, which includes studies dealing with the potential role of diapausing stages in space explorations (e.g. Alekseev *et al.*, 2007).

3.2. Escape in time

Diapause can be seen as a way to escape or disperse in time instead of in space and is likely the result of strong selective pressure which favoured the evolution of life-history traits that facilitate survival and reproduction in habitats of fluctuating quality. The obvious advantage which justifies diapause evolution is the increase in fitness supplied by allowing a genotype to escape periods of harsh living conditions or catastrophic events. It is, therefore, the stability, predictability, or frequency of catastrophic events of the habitat that governs whether diapause is a viable strategy or not. Indeed, switching from subitaneous to diapausing egg production imply a larger cost and a lower fitness over the short term. Clones that produce diapausing eggs are at an immediate competitive disadvantage compared to those that continue to produce subitaneous eggs, and the whole population may collapse if all females switch to diapausing-egg production

This competitive disadvantage is unimportant if the production of resting eggs is made in correct anticipation of a future environment where the individual is unlikely to survive or reproduce: in this case the real measure of fitness is the number of diapausing eggs transferred to the next growth period. Timing is crucial: switching too early implies a reduction of the current population reproduction rate and, thereby, of the number of diapausing eggs that could be produced later on; switching too late might mean that the individual or clone will have little or no time at all to produce diapausing eggs, and hence his genotype would be underrepresented or absent the coming season.

The same trade-offs as in the switch from active to dormant stage apply to the hatching of diapausing stages, that is the switch from the dormant to the active stage. In this case hatching too early implies the risk to be faced with conditions not yet favourable, while hatching too late implies the risk that resources are already depleted. For instance, for a cycling parthenogen the most advantageous condition would be hatching enough early to establish a large clonal population before late-hatching genotypes appear. The switch between active and dormant stages should thus be under strong selective pressure and this has been demonstrated, for instance, for the calanoid copepod *Diaptomus sanguineus* (Hairston & Dillon, 1990).

In environments characterized by a low variability of seasonal length or by a quite predictable frequency of catastrophic events the best strategy should be a rapid switch from subitaneous to diapausing egg production one generation before the catastrophe date. Conversely, if predictability decreases, it should be safer to start dormant stage production earlier or alternate between the two reproductive modes. Therefore, diapause patterns differ between habitats of different stability and predictability, e.g. permanent and temporary habitats.

4. Induction and termination of diapause

While quiescence is driven directly by the dynamics of environmental factors, diapause is determined by a predictive mechanism based on the perception of environmental signals. To perceive when environmental conditions are going to become unfavourable, and, in response, switch to diapausing egg production zooplankton rely on external cues. Two types of cues can be distinguished. Those directly associated with the conditions to be avoided, such as low food availability or kairomones from a predator, are direct cues. Otherwise, a signal (token cue) can be used, that is a stimulus highly correlated with the onset of an unfavourable period, but not necessarily causally related to the unfavourable condition, such as photoperiod.

Which type of cue will be a more efficient predictor of environmental change for a given zooplankton taxa seem to depend on several factors among which the most important seem to be:

- The characteristics of the environment: for instance, different types of cues should be suitable signals of environmental change in relation to environmental stability and predictability. Reaction to direct cues should be more reliable in highly variable environments: for instance a change in water conductivity and/or temperature could be a good predictor of drying in temporary aquatic ecosystems. However, it is extremely important for the organism to be able to perceive the cue and to react in the due time because these cues probably occur a rather short time before the adverse event. If either the organism is unable to perceive such cues due to physiological constraints, or it cannot react fast

enough to complete the diapausing egg production before the environment deterioration, it can be better to rely on token cues or bet-hedging strategies.

- The length of generation-time of the organism: Since the optimal switch date for diapause induction comes at a minimum of one generation before the catastrophe date, different types of cues should be used by zooplankters in relation to the length of their generation time. While animals with short generation times, such as rotifers, should use cues which inform of a change of environmental condition on a time scale of days, relatively long-lived animals like copepods are likely reacting to signal of changes on a seasonal time-scale. Such a trend in cues utilization has been evidenced by Gyllström & Hansson (2004) who compared a large number of data on different taxa: copepods almost exclusively use abiotic (seasonal) cues; cladocerans a mixture of abiotic and biotic cues; and rotifers mostly biotic cues, such as food availability and crowding.

Probably several cues, both direct and token, are generally involved and they can interact to produce a diapause response that differs from the response to cues received separately. An exhaustive list of examples is reported by Gyllström & Hansson (2004) and an accurate discussion about the evolution of points of view on inducing factors is reported by Alekseev (2007). The main inductive factors for diapause in zooplankton are: photoperiod, trophic conditions, temperature and population density. Effects of density are acting either through a reduction of food supply or by signal action of chemical and/or behavioural agents. In general, it seems that the most important factor for diapausing induction is photoperiod, while other factors that can be involved, often act together and along with photoperiod. No fixed relationship necessarily exists between the cue utilized to induce diapause and the nature of the adverse environmental condition to be avoided. For instance, copepods may use photoperiod and temperature as cues to avoid drought, predation or food limitation (Hairston, 1987; Hairston & Olds, 1987; Hansen & Hairston, 1998).

The timing and pattern of diapausing egg production is under genetic and phenotypic control (e.g. Alekseev, 2007).

As for diapause induction also termination can be induced, after a refractory phase of variable duration, by multiple cues. The termination of diapause in zooplankton seems to be triggered exclusively by abiotic stimuli, such as photoperiod, temperature and oxygen level (Gyllström, M. & L.-A. Hansson, 2004). However, a relatively low effort was put in investigating diapause termination compared to diapause induction and studies focused on a possible role of biotic cues are very scarce or non-existent. However, evidence exists about some effect of biotic cues, such as kairomones or chemicals from predators and/or conspecifics on hatching rates of diapausing eggs (Blaustein, 1997; Cáceres & Schwalbach, 2001).

As with diapause induction, both genetic variation and maternal effects have been shown to influence the response to a given hatching cue, as well as the hatching success and patterns in different zooplankton taxa (Gyllström & Hansson, 2004).

5. Dormancy effect on population dynamics of zooplankton

Both the induction and termination of dormancy may affect population demography and plankton succession. While the effects of diapause switching are quite intuitive and substantially consist in a rapid decline of the population, two effects of diapause termination are worthwhile to be summarized.

- Diapausing eggs are different from subitaneous eggs both in the morphological and histological structure, which confers them their high resistance, and in the biochemical composition. Indeed, they contain stored nutritive substances well in excess of the physiological needs of the embryo, characterized by a depressed metabolism (Zaffagnini, 1987). Consequently, animals hatching from diapausing eggs can be expected to have different life-history traits compared to those produced through subitaneous eggs. This was demonstrated by detailed studies on *Daphnia* (Arbačiauskas & Gasiūnaitė, 1996; Arbačiauskas, 1998, 2001). The ex-ephippial individuals grow faster, mature earlier, and have greater fecundity than parthenogenetically derived individuals. Consequently, the ex-ephippial generation has an higher intrinsic rate of natural increase compared to the parthenogenetic generations. However, this characteristic is expressed only under non-limiting food conditions, whereas under food limiting conditions, no advantage can be discovered of postdiapause over parthenogenetic females, which even may tend to be superior (Arbačiauskas, 2007). Thus, *Daphnia* has evolved two alternative seasonal phenotypes matching environmental conditions in which they occur: postdiapause females are adapted to a favourable environment without food limitation, which is expected during early season when emergence from diapause is observed, while parthenogenetic offspring are adapted to unpredictable and highly variable food conditions, which are expected later in the season (Arbačiauskas, 1998, 2001). Therefore, mass hatching upon return of favourable conditions not only results in a rapid increase of population because of an abundant new generation of reproducing females, but this effect is enhanced by the higher relative fitness of postdiapause offspring.
- Another possible effect of mass hatching, which can be seen as an adaptive advantage of diapause, is synchronization of reproduction (Tauber et al., 1986). Also in this case mass hatching from diapusing eggs implies the admission of a consistent cohort of newly matured individuals which will start their reproductive phase in the same period enhancing rapid establishment of the population after the period of dormancy.

One more important effect of diapause seems to be the production of interspecific hybrids in *Daphnia*. Indeed, in cyclical parthenogens like *Daphnia*, hybrids can be produced only during the phase of sexual reproduction, which is coupled with diapause. The ecological and evolutionary significance of hybrid production in the *Daphnia galeata-cucullata-hyalina* complex has been discussed by Spaak and Keller (2007).

6. Which the fate of diapausing eggs?

Diapausing eggs are produced by representatives of most freshwater zooplankton taxa, and can be very abundant in the sediment, typically ranging from thousands to millions of eggs per square meter (Hairston, 1996). Therefore, the size of the dormant part of the population can be as large, or even larger, as the size attained by the active population during the growing season (Hairston et al., 1995). The abundance of resting stages in the sediment results from the balance between the quantity of dormant stages produced and the quantity lost due to hatching or egg mortality by predation, senescence or infection (parasites). Delayed hatching of part of the egg bank has been observed in several species, and results in the generation of an egg bank with strong generation overlap (Ellner & Hairston, 1994). When dormancy persists over multiple seasons or generations, the egg bank is considered a "mixed persistent egg bank", whereas shorter durations of dormancy result in "transient egg banks" that may persist less than a single year (Brendonck & De Meester, 2003).

Diapausing eggs are known to remain viable for long periods and the 340 years old copepod viable egg found by Hairston et al. (1995) is commonly cited as an example of extreme longevity. However, only the eggs contained in the few top centimetres of sediments generally can hatch and contribute to the active population, while the eggs buried in the deeper sediment layers are virtually lost. The upper sediment layers are therefore defined as the "active egg bank" (Cáceres & Hairston, 1998) and the depth of the active egg bank is determined by the degree of sediment mixing which depends on several factors. Recent extensive reviews (Hairston & Kearns, 2002; Brendonck & De Meester, 2003; Gyllström & Hansson, 2004; De Stasio, 2007) provide comprehensive overviews of the structure and dynamics of egg banks and of their ecological and evolutionary significance. Here we briefly underline the importance of the fact that the accumulation of resting stages of different species, generations and genotypes with variable regeneration niches results in a mixed egg bank with greater potential diversity than the active community sampled at any one moment ("storage effect").

To summarize, diapause is an adaptive mechanism which enables populations to overcome harsh environmental conditions and to obtain a synchronization of

the life cycle with environmental seasonal rhythms. Diapause has both ecological and evolutionary effects:

- Affects population dynamics and community composition, as well as the genetic composition of the "active" population
- Determines an uncoupling of current population and community from the immediate effects of the previous season
- Promotes the coexistence of competing species in a temporally variable environment by enabling each species to perform a good reproduction at favourable moments compensating for losses due to adverse growing seasons
- Buffers the effect of local extinction of the population
- Preserves genetic material over long periods that can maintain genetic variation when selection fluctuates

7. Diapause patterns in high mountain lakes

In temporary ponds as well as in permanent lakes with strong seasonal fluctuations of environmental conditions, such as high mountain lakes, the production of diapausing eggs ensures the recruitment of population for the next favourable season. In high altitude lakes most zooplankton species commonly produce diapausing stages before the onset of the ice cover, while in temporary ponds resting stages are produced before the onset of the dry period. Different typologies of lakes are located in a relatively narrow geographic area in the Piora Valley (Canton Ticino, South Switzerland) providing an ideal natural laboratory for comparative studies on the diapause patterns and phenology of zooplankton species/populations. For instance, Lago di Dentro and Lago Pecian are typical examples of ultra-oligotrophic alpine lakes with acidic waters due to the crystalline acidic rocks composing the geological substrate of their basin. On the contrary, a good buffer capacity and a relatively high productivity level characterizes the waters of Lago di Cadagno and Lago Tom which are partly lying on a basic geological substrate (karstic dolomite). In addition, Lake Cadagno provides an singular example of a meromictic lake, as was also the nearby Lake Ritom before being used as a reservoir by the Swiss Federal Railways to generate hydro-electric power for the Gotthard line. Temporary lakes are also present, an example being provided by Lago Giubin.

Zooplankton species inhabiting such a wide variety of environments can be expected to display quite different patterns of diapause, not only as regards the timing of induction and termination but also the types of cues used as signals.

For instance, a midsummer (July) switch to resting eggs production generally occurs in all zooplankton taxa in Lago Giubin, while in the other nearby permanent lakes the same species are still in the active growing phase (Riccardi, unpublished data). In such a temporary pond, species should obviously be able to perceive the change of the water level before the onset of the drought, while in the other lakes the same species rely on more predictable seasonal changes.

The special features of Lago di Cadagno (e.g. Peduzzi et al. 1998) offer a further reason of interest in studying diapause patterns. Indeed, in meromictic lakes, which are permanently stratified, deep waters present stable anaerobic conditions which combine with low pH and high concentrations of organic acids, chelating substances and toxic compounds (H_2S , CH_4 , NH_3 , reduced forms of metals such as Fe II and Mn II) to create an hypolimnetic layer (monimolimnion) inadequate for life. Moreover, light penetration in the monimolimnion is generally impeded by the accumulation of dense bacterial populations in the water layer corresponding to the chemocline. From the available literature several factors are known to affect hatching success, among which the horizontal and vertical distribution seem to play a fundamental role. Indeed, hypolimnetic and sediment conditions experienced by diapausing stages affect survival and hatching rates. Moreover, for a diapausing stage to be retained in areas where they can perceive the proper hatching cues is a crucial factor.

In Lake Cadagno, over a maximum depth of 21 m, a permanent chemocline exists in a depth between 9 and 14 m. The monimolimnion is characterized by a high concentration of dissolved salts brought by sulphureous sublacustrine springs and is permanently anoxic. Phytoplankton populations develop down to a depth of about 10 m, underneath mass developments of phototrophic purple sulphur bacteria occur at depths between 11.5 and 13.5 m just where the oxygen concentration drops to zero (Peduzzi et al. 1998). These microorganisms provide a second source of primary production along with that of the algae and contribute to sustain a fairly abundant and diverse zooplankton association dominated by *Cyclops abyssorum taticus*, *Daphnia longispina* and *Acanthodiaptomus denticornis*. None of these species apparently overwinter under the ice cover and some diapause stages are expected to be produced at the end of the growing season. *Cyclops* are known as producing resting stages at major copepodite instars (e.g. Alekseev, 2007) while *Daphnia* and *Acanthodiaptomus* produce diapausing eggs. To complete their development embryos will need in oxygen that is usually absent in hypolimnion of meromictic lakes. For such diapausing stages the deep layers of water represent a sort of environmental trap. At the same time these special conditions in meromictic lakes could keep diapausing eggs of *Daphnia* as conserved for longer time than it is known (Hairston et al., 1995). If so these ephippia collected from meromictic lakes could become a convenient tool for paleoecological reconstruction. Some diaptomids are also known for additional summer diapause on copepodite instars to avoid food decline and fish fry predation in summer.

These diapausing copepodites stay in the hypolimnion for 2-3 months and seem to be activated by inner clock.

The particular physico-chemical conditions of the monimolimnion offer the opportunity to investigate the fate of diapausing eggs and copepodite stages sedimented in the anoxic layer. Moreover, the presence of 3 species with 3 different types of diapause participation in their life cycle provide in this lake an additional opportunity for ecological study.

A review of the literature showed that higher densities of diapausing eggs are found in the deeper parts of lakes (Hairston & Kearns, 2002). The observed pattern is most probably a result of the combination of passive transport from shallow to deep areas caused by resuspension dynamics, and the higher hatching rates found in shallow parts of lakes (Hairston & Kearns, 2002).

No studies were carried out in meromictic lakes, but one can hypothesize that dormant stages accumulated in the deeper parts are lost for the population if their hatching ability or the survival of newborns are reduced by the extremely harsh conditions of the monimolimnion waters. If termination of diapause in these conditions occurs, it would be important to identify by which factors it is controlled. Since neither photoperiod, nor oxygen or temperature (the three most frequently demonstrated cues for diapause timing in zooplankton) vary seasonally in the deeper layers, biotic factors or a sort of biological predetermined timing could be responsible for diapause termination.

In meromictic lakes diapausing stages should have evolved strategies to survive and hatch in extreme environmental conditions which are permanently maintained in the hypolimnion (monimolimnion) even when the season provides favourable conditions for growth in the epilimnion (mixolimnion). Therefore high altitude meromictic lakes can be considered interesting model systems for research on life adaptation to extreme conditions.

If the monimolimnion egg banks can be proved to be an active component of the population established in these kinds of lakes, a second problem which is worthwhile to be afforded is whether this is the result of a microevolutionary process leading to local adaptation.



Bibliographie

- Alekseev, V.R. & Y.L. Starobogatov.** (1996) Types of diapause in Crustacea: definitions, distributions, evolution. *Hydrobiologia*, 320: 15-26.
- Alekseev, V.R.** (2007) Diapause in crustaceans: Peculiarities of induction. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds), *Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 29-63.
- Alekseev, V.R., Sychev, V.N. & N.D. Novikova.** (2007) Studying the phenomenon of dormancy: why it is important for space exploration. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds), *Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 207-214.
- Arbačiauskas, K. & Z.R. Gasiūnaitė.** (1996) Growth and fecundity of Daphnia after diapause and their impact on the development of a population. *Hydrobiologia*, 320: 209-222.
- Arbačiauskas, K.** (1998) Life-history traits of ex-epippial and parthenogenetically derived daphnids: indicators of different life-history strategies. *Advances in Limnology*, 52: 339-358.
- Arbačiauskas, K.** (2001) Life-history variation related to the first adult instar in daphnids derived from diapausing and subitaneous eggs. *Hydrobiologia*, 442: 157-164.
- Arbačiauskas, K.** (2007) Does timing of emergence within season affect the evolution of post-diapause traits? Post-diapause and directly developing phenotypes of *Daphnia*. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds),

- Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 167-173.
- Ban, S. & T. Minoda.** (1991) The effect of temperature on the development and hatching of diapause and subitaneous eggs in *Eurytemora affinis* (Copepoda: Calanoida) in Lake Ohnuma, Hokkaido, Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, Special Volume, 299-308.
- Belmonte, G. & M. Puce.** (1994) Morphological aspects of subitaneous and resting eggs from *Acartia josephinae* (Calanoida). *Hydrobiologia* 292/293: 131-135.
- Bilton, D.T., Freeland, J.R., & B. Okamura.** (2001) Dispersal in freshwater invertebrates. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 32: 159-181.
- Black, A.R. & S.I. Dodson.** (1990) Demographic costs of *Chaoborus*-induced phenotypic plasticity in *Daphnia pulex*. *Oecologia*, 83: 117-122.
- Blaustein, L.** (1997) Non-consumptive effects of larval *Salamandra* on crustacean prey: can eggs detect predators? *Oecologia*, 110: 212-217.
- Brendonck, L. & B. J. Riddoch.** (1999) Wind-borne short-range egg dispersal in anostracans (Crustacea: Branchiopoda). *Zool. J. Linnean Soc.*, 67: 87-95.
- Brendonck, L. & L. De Meester.** (2003) Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia*, 491: 65-84.
- Cáceres, C.E. & M.S. Schwalbach.** (2001) How well do laboratory experiments explain field patterns of zooplankton emergence? *Freshwat. Biol.*, 46: 1179-1189.
- Cáceres, C.E.** (1997) Temporal variation, dormancy and coexistence: A field test of the storage effect. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 9171-9175.
- Champeau, A.** (1970) Etude de la vie latente chez le calanoides (Copépodes). Characteristiques des eaux temporaires de Basse-Provence. *Ann. Fac. Sci. Marseille*, 44: 155-189.
- De Stasio, B.** (2007) Egg bank formation by aquatic invertebrates: A bridge across disciplinary boundaries. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds), *Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 121-133.
- Declerck, S., Geenens, V., Podoor, N., Porcuna, J.M.C. & L. D. Meester.** (2003) Intraspecific density dependence in the dynamics of zooplankton under hypertrophic conditions. *Canadian J. Fish. Aquat. Sci.*, 60: 919-928.
- Dodson, S.L.** (1972) Mortality in a population of *Daphnia rosea*. *Ecology*, 53: 1011-1023.
- Elgmork, K.** (1967) Ecological aspects of diapause in copepods. *Proc. Symp. Crustacea*, 3: 947-954.
- Elgmork, K.** (1980) Evolutionary aspects of diapause in freshwater copepods. In: Kerfoot, W.C. (Ed.) *Evolution and ecology of zooplankton communities*. University Press of New England, Hanover, pp. 411-417.
- Elgmork, K.** (1981) Extraordinary prolongation of the life cycle in a freshwater plantkonic copepod. *Holoarct. Ecol.*, 4: 278-290.
- Ellner, S.P. & N. G. Jr. Hairston.** (1994) Role of overlapping generations in maintaining genetic variation in a fluctuating environment. *Am Nat.*, 143: 403-417.

- Fedorenko, A.Y.** (1975) Feeding characteristics and predation impact of *Chaoborus* (Diptera, Chaoboridae) larvae in a small lake. *Limnol. Oceanogr.*, 20: 250-258.
- Fryer, G. & D.G. Frey.** (1981) Two-egged ephippia in the chydorid Cladocera. *Freshwater Biol.* 11: 391-394.
- Fryer, G.** (1996) Diapause, a potent force in the evolution of freshwater crustaceans. *Hydrobiologia*, 320: 1-14.
- Gilbert, J.J. & D.K. Schreiber.** (1995) Induction of diapausing amictic eggs in *Synchaeta pectinata*. *Hydrobiologia*, 313/314: 345-350.
- Gilbert, J.J. & D.K. Schreiber.** (1998) Asexual diapause induced by food limitation in the rotifer *Synchaeta pectinata*. *Ecology*, 79: 1371-1381.
- Gilbert, J.J.** (1974) Dormancy in rotifers. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 93 : 490-513.
- Gilbert, J.J.** (1995) Structure, development and induction of a new diapause stage in rotifers. *Freshwat. Biol.*, 34: 263-170.
- Grice, G.D. & V.R. Gibson.** (1981) Hatching of eggs of *Pontella mediterranea* Claus (Copepoda: Calanoida). *Vie et Milieu*, 31: 49-51.
- Gulati, R. D. & W. DeMott.** (1997) The role of food quality for zooplankton: remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities. *Freshwater Biology*, 38: 753-768.
- Gyllström, M. & L.-A. Hansson.** (2004) Dormancy in freshwater zooplankton: induction, termination and the importance of benthic-pelagic coupling. *Aquat. Sci.*, 66: 274-295.
- Hairston, N. G. Jr. & C.M. Kearns.** (2002) Temporal dispersal: ecological and evolutionary aspects of zooplankton egg banks and the role of sediment mixing. *Integr. Comp. Biol.*, 42: 481-491.
- Hairston, N.G. Jr & E.J. Olds.** (1984) Population differences in the timing of diapause: adaptation in a spatially heterogeneous environment. *Oecologia*, 61: 42-48.
- Hairston, N.G. Jr. & A.J. Bohonak** (1998) Copepod reproductive strategies: life-history theory, phylogenetic pattern and invasion of inland waters. *J. Mar. Syst.*, 15: 23-34.
- Hairston, N.G. Jr. & C. A. Cáceres.** (1996) Distribution of crustacean diapause: micro and macroevolutionary pattern and process. *Hydrobiologia*, 320: 27-44.
- Hairston, N.G. Jr. & C.M. Kearns** (2002) Temporal dispersal: ecological and evolutionary aspects of zooplankton egg banks and the role of sediment mixing. *Integr. Comp. Biol.*, 42: 481-491.
- Hairston, N.G. Jr. & E.J. Olds** (1987) Population differences in the timing of diapause: a test of hypotheses. *Oecologia*, 71: 339-344.
- Hairston, N.G. Jr. & T.A. Dillon.** (1990) Fluctuating selection and response in a population of freshwater copepods. *Evolution*, 44: 1796-1805.
- Hairston, N.G. Jr.** (1998) Time travellers: What's timely in diapause research? *Ergeb. Limnol.*, 52: 1-15.

- Hirston, N.G. Jr.** (1987) Diapause as a predator-avoidance adaptation. In: Kerfoot W.C. & A. Sih, eds. *Predation: direct and indirect impacts on aquatic communities*. University Press of New England, Hanover, N.H., pp. 281-290.
- Hirston, N.G. Jr.** (1996) Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnol. Oceanogr.*, 41: 1087-1092.
- Hirston, N.G. Jr., R.A. van Brunt, C.M. Kearns & D.R. Engstrom.** (1995) Age and survivorship of diapausing eggs in a sediment egg bank. *Ecology*, 76: 1706-1711.
- Hanazato, T. & M. Yasuno.** (1989) Zooplankton community structure driven by vertebrate and invertebrate predators. *Oecologia*, 81: 450-458.
- Hansen, A.M. & N. G. Jr. Hirston.** (1998) Food limitation in a wild cyclopoid copepod population: direct and indirect life-history responses. *Oecologia*, 115: 320-330.
- Havel, J.E.** (1987) Predator-induced defenses: a review. In: Kerfoot W.C. & A. Sih (Eds) *Predation: direct and indirect impacts on aquatic communities*. University Press of New England, Hanover, N.H., pp. 263-278.
- Hebert, P.D.N. & R.D. Ward.** (1972) Inheritance during parthenogenesis in *Daphnia magna*. *Genetics*, 71: 639-642.
- Hebert, P.D.N. & T.J. Crease.** (1983) Clonal diversity in populations of *Daphnia pulex* reproducing by obligate parthenogenesis. *Heredity*, 51: 353-369.
- Hebert, P.D.N.** (1981) Obligate asexuality in *Daphnia*. *Am. Nat.*, 117: 784-789.
- Ianora, A. & L. Santella.** (1991) diapause embryos in the neustonic copepod *Anomalocera patersoni*. *Mar. Biol.*, 108: 387-394.
- Kasahara, S. & S. Uye.** (1979) Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds. V. Seasonal changes in hatching of subitaneous and diapause eggs of *Tortanus forcipatus*. *Mar. Biol.*, 55: 63-68.
- Korovchinsky, N.M. & O.S. Boikova.** (1996) The resting eggs of the Ctenopoda (Crustacea: Branchiopoda): a review. *Hydrobiologia*, 320: 131-140.
- Krueger, D.A. & S.I. Dodson.** (1981) Embriological induction and predation ecology in *Daphnia pulex*. *Limnol. Oceanogr.*, 26: 219-223.
- Lampert, W.** (1993) Ultimate causes of diel vertical migration of zooplankton: New evidence for the predator avoidance hypothesis. *Ergeb. Limnol.*, 39: 79-88.
- Lampert, W.** (1994) Phenotypic plasticity in the size at first reproduction in *Daphnia magna*. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, 25: 2362-2365.
- Larsson, P.** (1997) Ideal free distribution in *Daphnia*? Are daphnids able to consider both the food patch quality and the position of competitors? *Hydrobiologia*, 360: 143-152.
- Lauridsen, T.L., Jeppesen, E., Søndergaard, M. & D.M. Lodge.** (1997) Horizontal migration of zooplankton: predator-mediated use of macrophyte habitat. In: Jeppesen, E., Søndergaard, M. and Christoffersen, K. (Eds), *The structuring role of submerged macrophytes in lakes*, Springer Verlag, New York, pp.233-239.
- Leibold, M.A.** (1991) Trophic interactions and habitat segregation between competing *Daphnia* species. *Oecologia*, 86: 510-520.

- Libman, B.S. & S.T. Threkeld.** (1999) Diapause phenology and egg bank dynamics of a calanoid copepod in floodplain habitats. *Arch. Hydrobiol.*, 145: 349-358.
- Lindley.** (1992) Resistant eggs of the Centropagoidea (Copepoda: Calanoida): a possible preadaptation to colonization of inland waters. *J. Crustacean Biol.*, 12: 368-371.
- Lürling, M. & E. Van Donk.** (1996) Zooplankton-induced unicell-colony transformation in *Scenedesmus acutus* and its effect on growth of herbivore *Daphnia*. *Oecologia*, 108: 432-437.
- Marcus, N.H. & Fuller, C.M.** (1986) Subitaneous and diapause eggs of *Labidocera aestiva* Wheeler (Copepoda: Calanoida): differences in fall velocity and density. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 99: 247-256.
- Mort, M.** (1986) *Chaoborus* predation and the function of phenotypic variation in *Daphnia*. *Hydrobiologia*, 133: 39-44.
- Müller-Navarra, D.** (1995) Evidence that highly unsaturated fatty acid limit *Daphnia* growth in nature. *Arch. Hydrobiol.* 132: 297-307.
- Mumm, H.** (1997) Effects of competitors and *Chaoborus* predation on the cladocerans of a eutrophic lake: an enclosure study. *Hydrobiologia*, 360: 253-264.
- Naess, T. & J.P. Nilssen.** (1991) Diapausing fertilized adults a new pattern of copepod life cycle. *Oecologia*, 86: 368-371.
- Neill, W.E.** (1981) Impact of *Chaoborus* predation upon the structure and dynamics of a crustacean zooplankton community. *Oecologia*, 48: 164-177.
- Neill, W.E.** (1984) Regulation of rotifer densities by crustacean zooplankton in an oligotrophic montane lake in British Columbia. *Oecologia*, 61: 175-181.
- Panov, V. E. & C. Cáceres.** (2007) Role of diapause in dispersal of aquatic invertebrates. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds), *Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 187- 195.
- Panov, V. E., Krylov, P. I. & N. Riccardi.** (2004) Role of diapause in dispersal and invasion success by aquatic invertebrates. *J. Limnol.*, 63 (Suppl. 1): 56-69.
- Peduzzi, R., Bachofen, R. & M. Tonolla (Eds).** (1998) *Lake Cadagno: a meromictic alpine lake*. Documenta dell'Istituto Italiano di Idrobiologia, CNR, Verbania Pallanza, pp. 152.
- Reede, T.** (1997) Preliminary experiments on resource competition between a migrating and a non-migrating clone of the hybrid *D. galeata x hyalina*. *Hydrobiologia*, 360: 109-115.
- Repka, S., Walls, M. & M. Ketola.** (1995) Neck spine protects *Daphnia pulex* from predation by *Chaoborus*, but individuals with longer tail spine are at a greater risk. *J. Plankton Res.*, 17: 393-403.
- Ricci, C.** (1998) Anhydrobiotic capabilities of bdelloid rotifers. *Hydrobiologia*, 387/388: 321-326.
- Ricci, C.** (2001) Dormancy patterns in Rotifers. *Hydrobiologia*, 446/447: 1-11.
- Ringelberg, J.** (1991) A mechanism of predator-mediated induction of diel vertical migration in *Daphnia hyalina*. *J. Plankton Res.*, 13: 83-90.

- Ruttner-Kolisko, A., 1946. Über das Auftreten unbefruchteter "Dauereier" bei *Keratella quadrata*. Öst. Zool. Z., 1: 179-191.
- Slusarczyk, M.** (1995) Predator-induced diapause in *Daphnia*. *Ecology*, 76: 1008-1013.
- Spaak, P. & B. Keller.** (2007) Diapause and its consequences in the *Daphnia galeata-cucullata-hyalina* species complex. In: Alekseev, V.R., De Stasio, B. & J.J. Gilbert (Eds), *Diapause in Aquatic Invertebrates: Theory and Human Use*. Springer Verlag, Dordrecht, NL, pp. 177-185.
- Swift, M.C.** (1992) Prey capture by the fourth larval instars of *Chaoborus cristallinus*. *Limnol. Oceanogr.*, 37: 14-24.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A. & S. Masaki.** (1986) Seasonal Adaptations of Insects. Oxford Univ. Press, New York.
- Urabe, J. & R.W. Sterner.** (1996) Regulation of herbivore growth by the balance of light and nutrients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 8465-8469.
- Wiggins, G.B., Mackay, R.J. & I.M. Smith.** (1980) Evolutionary and ecological strategies of animals in annual temporary pools. *Arch. Hydrobiol.*, 58: 97-206.
- Zaffagnini, F.** (1987) Reproduction in *Daphnia*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 45: 245-284.

VII. Val Piora - ein mikrobiologischer Feldführer

Reinhard Bachofen, Helmut Brandl

1. Einleitung

Feldführer geben dem Naturfreund rasch Einblicke in Teile unserer vielfältigen Umgebung, zum Beispiel über Blumen, Bäume, Pilze, Vögel, Steine und Mineralien, oder über bestimmte Ökosysteme, wie Tümpel, die Alpen oder Meeresküsten. Etwas Ähnliches über die kleinsten Lebewesen – die Mikroorganismen – zu finden ist schwieriger. Mikroorganismen hinterlassen beim Wachstum Spuren oder Signaturen ihrer Aktivitäten, zum Beispiel Flecken in vielfältigen Farben, Gasblasen, besondere Gerüche oder schleimige Oberflächen. Dieser Text soll makroskopische Spuren von Mikroorganismen aufzeigen, die im Raum Piora gefunden werden können, und auch anregen, über die lokalen ökologischen Zusammenhänge nachzudenken. Wir möchten den Leserinnen und Lesern die Augen für makroskopische mikrobiologische Phänomene öffnen, die ohne Hilfsmittel sichtbar sind.

Zu den Mikroorganismen zählen Viren und Bakterien, aber auch höhere Organismen mit ein- oder wenig-zelliger Wuchsform. Gemeinsam ist, dass ihre Zellen klein sind; Zelldurchmesser oder -länge liegen in der Regel im Bereich zwischen einigen Zehnteln bis zu mehreren Mikrometern (μm). Bakterien – eingeschlossen die Cyanobakterien oder Blaualgen – sind Prokaryoten mit einem einfachen Zellbau ohne Zellkern und wenig inneren Strukturen, während Algen, Pilze und Protozoen zu den Eukaryoten, den höheren Organismen, zählen. Einzelzellen, auch in kleinen Paketen vereint oder zu Fäden aneinandergereiht, können wir von Auge nicht erkennen; wir brauchen als Hilfsmittel ein Mikroskop. Sobald sie sich aber durch reges Wachstum als Anhäufungen entwickeln, sind etwa pigmenthaltige Mikroorganismen als farbige Muster erkennbar (Abb. 1).



Abb. 1. Wachstum von pigmenthaltigen Bakterien auf einem Nährmedium in einer Petrischale. Jede der verschiedenen Kolonien ist aus einer einzelnen Zelle hervorgegangen.

Mikroorganismen sind an allen Stoffkreisläufen in der Natur beteiligt. In biogeochimischen Zyklen werden chemische Elemente in biologischen Prozessen umgewandelt. Anorganische Verbindungen werden in die Zellmasse von Organismen eingebaut und später wieder freigesetzt, Vorgänge, die in Zeiträumen von Minuten bis Jahren ablaufen. Organische Kohlenstoffverbindungen werden aus CO₂ durch phototrophe Organismen mit Hilfe von Licht aufgebaut und durch heterotrophe Bakterien wieder zu CO₂ mineralisiert. Anorganische Verbindungen, besonders von Stickstoff und Schwefel, sowie von Metallen, werden durch Mikroorganismen oxidiert und reduziert (Brandl, 2008).

Je kleiner und versteckter Organismen sind, umso schwieriger wird die Frage nach ihrer Häufigkeit und ihrer Artenvielfalt. Anzahl und Masse aller Mikroorganismen in Wasser, Erde, und in den tieferen Zonen der Erde wurden aus Literaturdaten geschätzt mit der erstaunlichen Gesamtzahl von 5×10^{30} Zellen, entsprechend einer Kohlenstoff-Menge von 5×10^{11} Tonnen. Dies ist etwa gleichviel wie weltweit der gesamte Gehalt an Kohlenstoff in allen Pflanzen (Tab. 1).

Tab. 1. Anzahl und Gewicht aller Bakterien^{a)}

Habitat, Ökosystem	Anzahl Zellen x 10^{28}	Menge Kohlenstoff x 10^{12}
Gewässer (Flüsse, Seen, Meere)	12	2.2
Untergrund von Ozeanen	355	303
Böden	26	24
Untergrund von Böden	25 -250	22 - 215
total	415 - 640	353 - 546

^{a)} Zum Vergleich: total Kohlenstoff der gesamten Vegetation weltweit: $560 \text{ kg} \times 10^{12}$

Mikroorganismen sind überall anzutreffen! Es gibt kaum einen Standort, an dem Mikroorganismen NICHT vorkommen. Man findet sie in heißen Quellen wie in Eis und dauernd gefrorenen Böden, in sauren Abwässern von Erzminen, konzentrierten Salzlösungen von Salinen, auf UV exponierten Steinen im Hochgebirge oder in extremen Trockengebieten. Mikroorganismen überdauern nicht nur an solchen Standorten, sie wachsen dort wenn auch nur langsam oder in Unterbrüchen, mit Verdopplungszeiten von Wochen oder Monaten.

Mikroorganismen kommen zwar überall vor, an denjenigen Orten, wo sie aber mit makroskopischen Signaturen erkennbar werden, besteht häufig eine enge Beziehung zur unmittelbaren Umgebung. Massenentwicklungen weniger Arten finden sich dort, wo im Moment besonders günstige Bedingungen herrschen, zum Beispiel bezüglich Licht, Temperatur, Sauerstoff, Wasser- und Nährstoffangebot. Dadurch werden die Möglichkeiten der Entwicklung von

verschiedenen Konkurrenz-Mikroorganismen eingeschränkt. Auch das zeitweise Fehlen von Konsumenten (Frassfeinde) kann einzelne Arten bevorzugen und zu deren Dominanz führen.

Bisher sind etwa 5'000 verschiedenen Bakterienarten isoliert, morphologisch und physiologisch beschrieben, und als reine Kulturen gezüchtet worden, eine Zahl, die sehr bescheiden ist im Vergleich zu anderen Organismengruppen. Heute weiss man, dass der morphologisch-physiologische Ansatz nicht genügt, um das wirkliche Ausmass der bakteriellen Vielfalt zu erfassen (Tab. 2).

Tab. 2. Beschriebene Artenzahlen für verschiedene Organismengruppen
(nach Wilson & Peter, 1988)

Organismengruppe	Zuordnung	ungefähre Anzahl beschriebener Arten
Viren	Viren	1'000
Bakterien	Prokaryoten	5'000
Cyanobakterien	Prokaryoten	1'700
Pilze	Eukaryoten	47'000
Algen	Eukaryoten	27'000
niedere Pflanzen	Eukaryoten	28'000
nöhere Pflanzen	Eukaryoten	220'000
Invertebraten	Eukaryoten	990'000
davon Insekten	Eukaryoten	750'000
Wirbeltiere	Eukaryoten	42'600
total		1'400'000

Jeder Organismus braucht für das Wachstum eine definierte Energiequelle, die notwendigen Nähr- und Baustoffe, und zusätzlich die ihm entsprechenden Umgebungsbedingungen. Für viele Mikroorganismen sind diese Faktoren heute noch weitgehend unbekannt. So lässt sich heute erst ein kleiner Teil aller Mikroorganismen unter Laborbedingungen züchten.

In der Natur sind dichte Suspensionen von einzelligen Mikroorganismen in Gewässern eher selten. Dann kann es zum Aufrahmen an der Oberfläche kommen (Algenblüten) oder gewisse Organismengruppen bilden eine konzentrierte Schicht in tieferen Zonen (wie im Cadagnosee). Viel häufiger ist die Bildung von Biofilmen, d.h. das Wachstum von Mikroorganismen auf festen Unterlagen und an Grenzschichten, auf Pflanzenteilen, Steinen und Erdkrümeln, oder an der Wasser-Sediment-, wie aber auch an der Wasser-Luft-Grenzschicht.

2. Mikroorganismen in aquatischen Lebensräumen

Aquatische Lebensräume sind vielfältig und weisen ganz unterschiedliche Lebensbedingungen auf. Das Angebot an Licht und Nährstoffen, Ionengehalt, Sauerstoff-Konzentration, Temperatur, pH-Wert, Intensität der Strömung und Beschaffenheit der Unterlage bestimmen Art und Geschwindigkeit des Wachstums einer Population. Zusätzlich beeinflussen biologische Faktoren wie Frassfeinde oder Parasiten Wachstum und Verbreitung der Mikroorganismen.

Massenentwicklungen von Mikroorganismen im freien Wasser

Solche sind meist kurzlebig (Tage bis wenige Wochen) und leicht zu beobachten. Die Sichttiefe nimmt ab und durch Aufrahmen der Zellen kann sich eine Schwimmschicht bilden, die die Lichtintensität in geringer Tiefe auf einen Bruchteil der Oberflächenstrahlung verringert. Solche „Wasserblüten“ werden oft durch Cyanobakterien verursacht (Abb. 2).



Abb. 2. Algenteppich nach Massenentwicklung und Aufrahmen der Biomasse durch hohe Sauerstoffproduktion im Licht (Tümpel im Feuchtgebiet westlich von Cadagno di fuori).

Beim Absterben und dem Abbau dieser Organismen wird Sauerstoff verbraucht und in den tieferen Schichten kommt es zu Sauerstoffmangel und auch der Bildung von Schwefelwasserstoff. Weitere unerwünschte Stoffe aus dem Stoffwechsel von Cyanobakterien sind hochgiftige Toxine, z.B. Microcystine, die für Tiere und Menschen sogar tödlich sein können. Die grösseren Seen im

Pioragebiet sind zu arm an Nährstoffen, um solche Algenblüten zu ermöglichen; hingegen sind Massenentwicklungen in Tümpeln, Wasserlöchern bei Rinderweiden oder Viehbrunnen nicht auszuschliessen. Auf Alpweiden werden fast jedes Jahr Todesfälle bei Rindern gemeldet, die auf Massenentwicklungen von Cyanobakterien zurückgeführt werden können.

Massenwachstum in Wasserpfützen

Kleine Wasserpfützen im Boden und Tümpel sind häufig nährstoffreich, in solchen entwickelt sich nach Regenfällen oft der tiefrote *Haematococcus pluvialis* (Blutregenalge). Auch in Brunnen oder Vertiefungen in Steinen kann diese Grünalge beobachtet werden (Abb. 3).



Abb. 3. Massenentwicklung von *Haematococcus pluvialis* in Steinmulde.

Ihre roten kugeligen Dauerzellen werden durch die Luft leicht verbreitet. Beim roten Farbstoff handelt es sich um das Carotinoid Astaxanthin, das bis 3.5% des Trockengewichts ausmachen kann. Neben *Haematococcus* bewirkt auch *Euglena sanguinea* grüne oder tief rote Verfärbungen in Kuhtritten um Lagerstellen, solches Massenwachstum verschwindet meist rasch nach wenigen Tagen.

Schicht phototropher Bakterien im Cadagnosee und Meromixis

Meromiktische Seen sind stehende Gewässer, die im Jahreslauf nie vollständig durchmischt werden. Sie bestehen aus einer oxischen Oberflächenschicht, deren Wasser immer wieder gemischt wird (Mixolimnion) (Abb. 4), sowie aus einer von der Oberfläche vollständig abgeschnittenen Tiefenschicht (Monimolimnion).

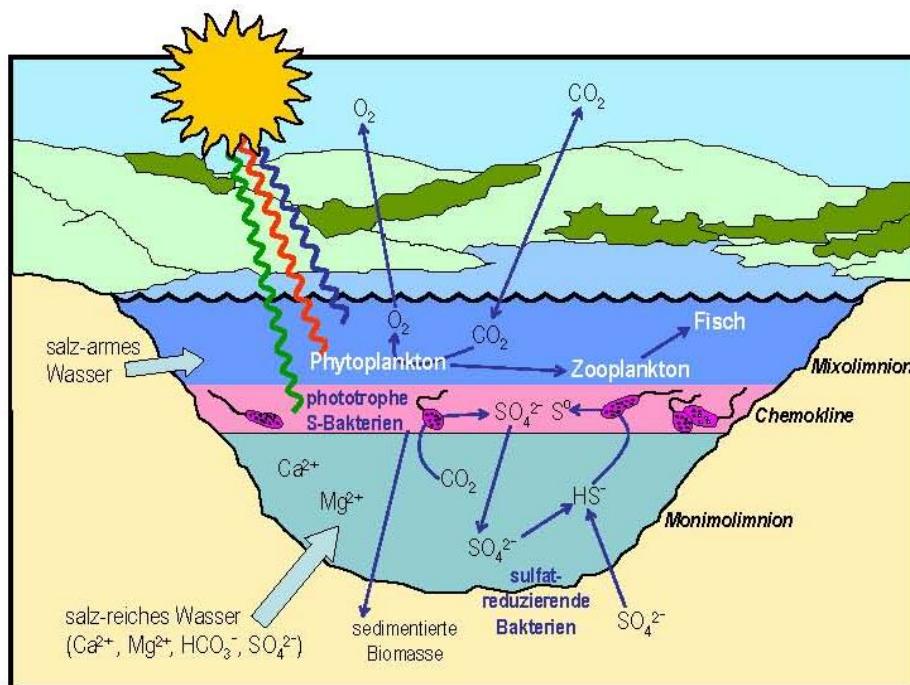


Abb. 4. Schematische Darstellung der Stoffwechselvorgänge in den verschiedenen Kompartimenten im Cadagnosee.

Diese ist charakterisiert durch Abbauvorgänge und ist frei von Sauerstoff. Beim Cadagnosee ist die Schichtung dadurch stabil, weil das Tiefenwasser durch Unterwasserquellen eine höhere Dichte aufweist. Im Mixo- und im Monimolimnion sind nicht nur die Konzentrationen der gelösten Salze verschieden, sondern auch die Form der Anionen, oxidiert im Mixolimnion (HCO_3^- , SO_4^{2-} , NO_3^-), reduziert im Monimolimnion (CH_4 , H_2S , NH_4^+). Damit ergibt sich am Übergang vom Mixo- zum Monimolimnion eine Zone, in welcher sich über kurze Distanzen die Redoxzustände der Komponenten drastisch ändern (Chemokline). Hier bilden sich an der Grenze im anoxischen Bereich eine meterdicke Schicht von phototrophen Schwefel-Bakterien. Sie müssen mit einer Schöpfflasche beprobt werden (Abb. 5 bis 8).

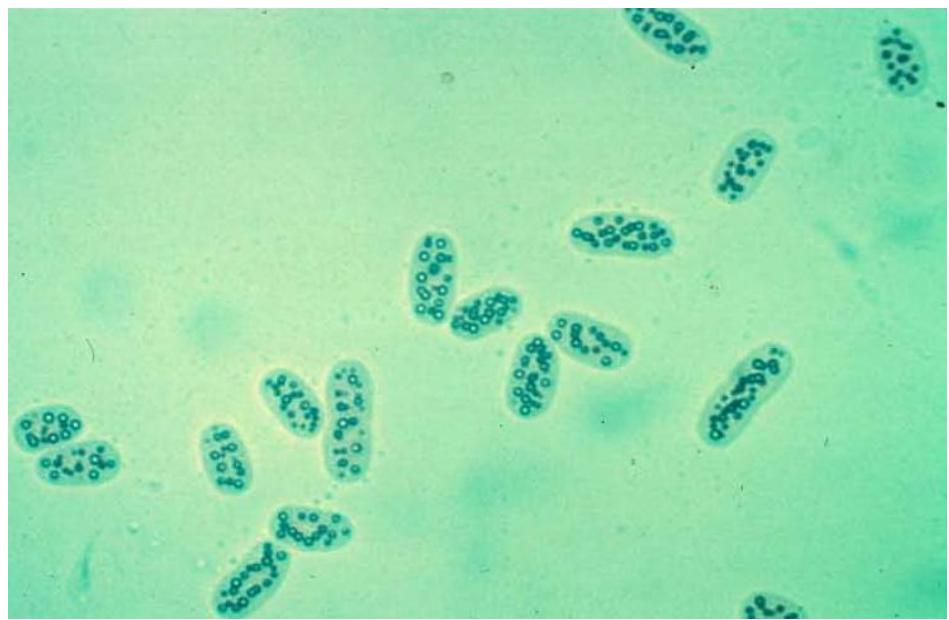


Abb. 5. Mikroskopische Aufnahme von *Chromatium okenii* mit Schwefelkörnchen im Zellinnern.



Abb. 6. Schöpfflasche mit Wasserprobe aus der Bakterienschicht aus 13 m Tiefe.

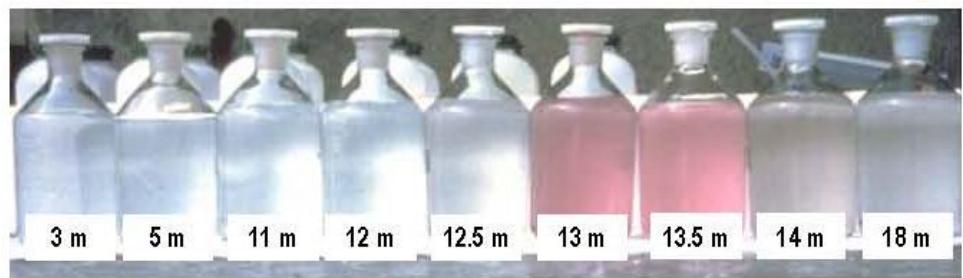


Abb. 7. Wasserproben aus verschiedenen tiefen Schichten des Cadagnosees.

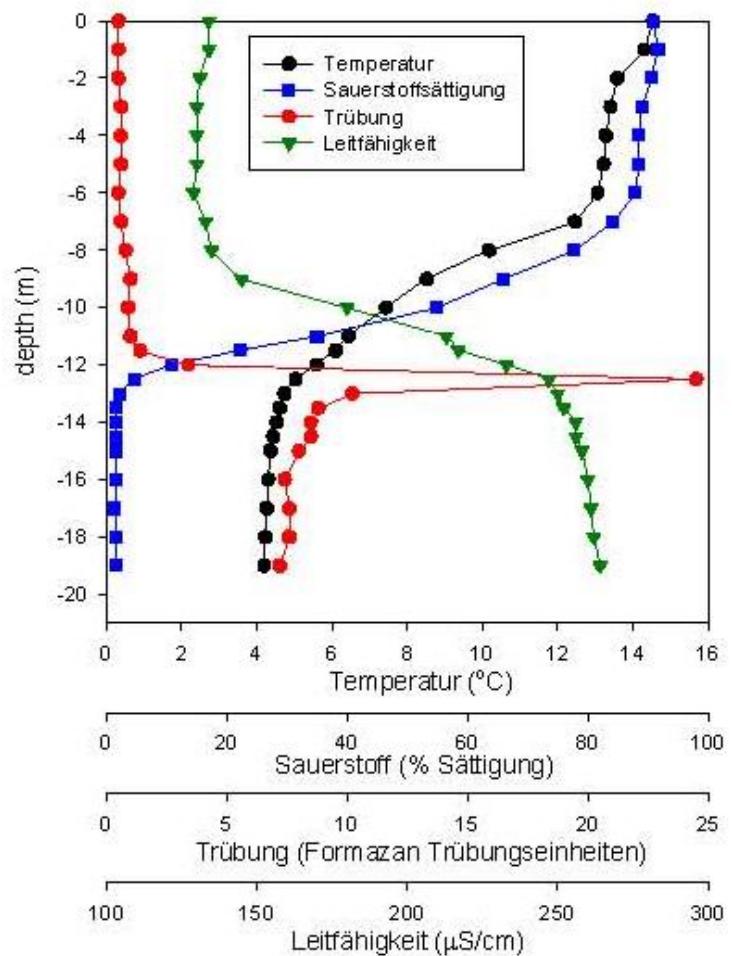


Abb. 8. Tiefenprofil vom Cadagnosee im Sommer mit Temperatur, Sauerstoffsättigung, Leitfähigkeit und Trübung.

Auch der Ritomsee war früher meromiktisch. Er wurde im Zusammenhang mit der Elektrifizierung der Gotthardbahn 1915 durch M. Duggeli aus Zürich mikrobiologisch untersucht (Duggeli, 1919 & 1924). Durch den Bau eines Staudamms und der tiefen Lage der Wasserabführung im See veränderten sich die Umweltbedingungen für die phototrophen Bakterien.

Uferbiofilme in stehenden Gewässern

Häufiger sind in den Pioraseen Uferbiofilme zu beobachten. Diese sind meist mehr oder weniger permanente mikrobielle „Wohngemeinschaften“ auf festen Unterlagen mit einem breiten Artenspektrum. Wechselnde Umweltbedingungen bewirken eine hohe Dynamik und eine intensive Produktion an Biomasse. Mechanische Kräfte durch Wellenschlag, oder Konsumenten wie etwa Fliegenlarven, Würmer oder Schnecken verändern die makroskopische Erscheinung des Biofilms wenig. Oft sind es Gemeinschaften, die von fädigen Grün- und/oder Kieselalgen dominiert werden. Zeitweise überwiegen einzelne Arten, welche bei den gerade herrschenden Bedingungen besonders rasch wachsen. In der Wellenschlagzone der Seen sind im Frühjahr die Grünalgen *Ulothrix zonata*, später *Cladophora glomerata* und Arten von *Spirogyra* häufig.

Biofilme in Fließgewässern

In Fließgewässern sind Geröllsteine und Geschiebe je nach Nährstoffangebot im Wasser und den wechselnd benetzten Übergangszonen am Ufer überwachsen mit verschiedenen Organismen. Cyanobakterien, grüne und braune Algen und Wassermoose können vielfältige Farbenteppiche bilden. Rot-braune Färbungen werden durch Cyanobakterien der Gattungen *Pleurocapsa* und *Siphonema* verursacht, grüne Krusten sind Anhäufungen von *Hydrocoleus*, *Pleurocapsa*, *Calothrix*, *Oscillatoria* und *Pseudanabaena*. Überall finden sich auch Überzüge von Kieselalgen (=Diatomeen). In Gebirgsbächen ist makroskopisch oft wenig Aufwuchs-Biomasse auf den Steinen auszumachen. Die vorhandenen Mikroorganismen wachsen zwar rasch; die dabei gebildete Biomasse wird aber nachts durch Insektenlarven gefressen, welche sich tagsüber unter den Steinen im Bachbett aufhalten.

Biofilme auf der Oberfläche stehender Gewässer

So wie sich an den Grenzflächen zwischen festen Körpern und Wasser Biofilme mit Bakterien und Algen bilden, häufen sich auch an der Wasser-Luft-Grenzfläche eine Vielzahl von Mikroorganismen an, das Neuston. In stehenden Kleingewässern kann es zu einer von Auge sichtbaren Kahmhaut kommen. Diese Organismen sind einer starken Strahlung ausgesetzt, in Gebirgsseen zusätzlich einer erhöhten UV-Strahlung (Abb. 9).

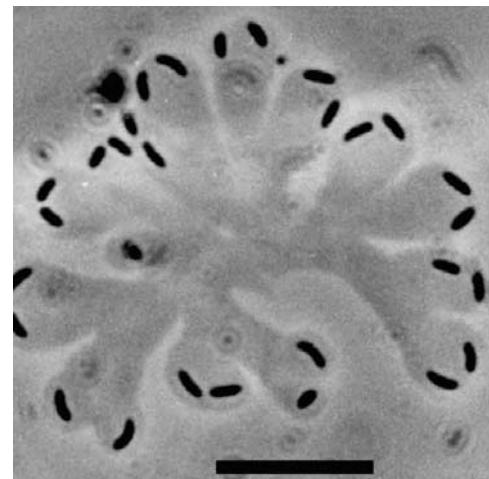
Ein spezifisches Bakterium des Neustons ist *Nevskia ramosa* mit einer charakteristischen Form. Die Zellen scheiden schleimige Stiele aus Exopolysacchariden (EPS) aus, die sich zu rosetten-artigen Strukturen verzweigen. In Stickstoff armem Medium bildet *Nevskia* einen Biofilm an der Oberfläche und versorgt sich mit Stickstoffverbindungen aus der Atmosphäre

(Abb. 10). Während bei bewegter Wasseroberfläche nur 300 *Nevskia* ähnliche Bakterien pro Milliliter gezählt wurden, fand man nach einer warmen, ruhigen Periode in einem Teich in Deutschland um 430'000 Individuen ml⁻¹ davon. *Nevskia* ist auch in den hoch gelegenen Seen nördlich des Pioratales gefunden worden, scheint also der verstärkten UV-Strahlung zu widerstehen.



Abb. 9. Kahmhaut in Tümpel mit stehendem Wasser Licht (Tümpel im Feuchtgebiet westlich von Cadagno di fuori).

Abb. 10. Mikrokolonie von *Nevskia ramosa* auf der Wasseroberfläche (Balken = 10 Mikrometer; Bild: H. Cypionka, Universität Oldenburg).



3. Mikroorganismen in terrestrischen Lebensräumen

Viele Mikroorganismen wachsen unsichtbar auf oder in der Erde oder in Sedimenten, festsitzend auf anorganischen Gesteinspartikeln oder organischen Resten. Neben phototrophen Mikroorganismen an der Bodenoberfläche gedeihen in humusreichen Böden viele heterotrophe Bakterien- und Pilzarten. Die Anzahl Bakterien in Erde kann bis zu 10¹⁰ Zellen pro Gramm Boden ausmachen, ebenso ist die Artenvielfalt sehr hoch (10 – 50 x 10³ verschiedene

Arten pro Gramm Boden). Bakterien und Pilze sind die wichtigsten Zersetzer in der Natur; ohne ihre Tätigkeiten würden wir in kurzer Zeit in den Abfallprodukten der Natur ersticken.

Mikroorganismen auf Erdoberflächen und Erdkrümeln

Mikroorganismen besiedeln Bodenteilchen und bilden Biofilme, dabei werden Exopolymere ausgeschieden, die die Organismen mit der Unterlage verkleben, die aber auch den pH-Wert im Boden stabilisieren und lösliche Nährstoffe zurückhalten. Sie schützen ferner die Organismen bei Wassermangel. Viele sonst als Wasserorganismen bekannte Cyanobakterien und Algen finden sich auch auf und in Böden und Steinen, auch in unwirtlichen Gebieten. Unter solchen Bedingungen sind sie dann oft die einzigen Primärproduzenten. Man findet sie auf der Oberfläche und innerhalb der obersten Zentimeter der Erde, auf und in Steinen, in Höhlen und auch in Schnee und Eis. Terrestrische Habitate zeigen in Bezug auf viele Umweltfaktoren wesentlich grössere zeitliche und räumliche Schwankungen als aquatische Systeme. Temperatur, Lichtintensität, Wassergehalt variieren täglich oder saisonal und es kommt für die Organismen häufig zu Stresssituationen. Gewisse Cyanobakterien können ein vollständiges Austrocknen überdauern und sind unempfindlich gegen extreme Temperaturen.

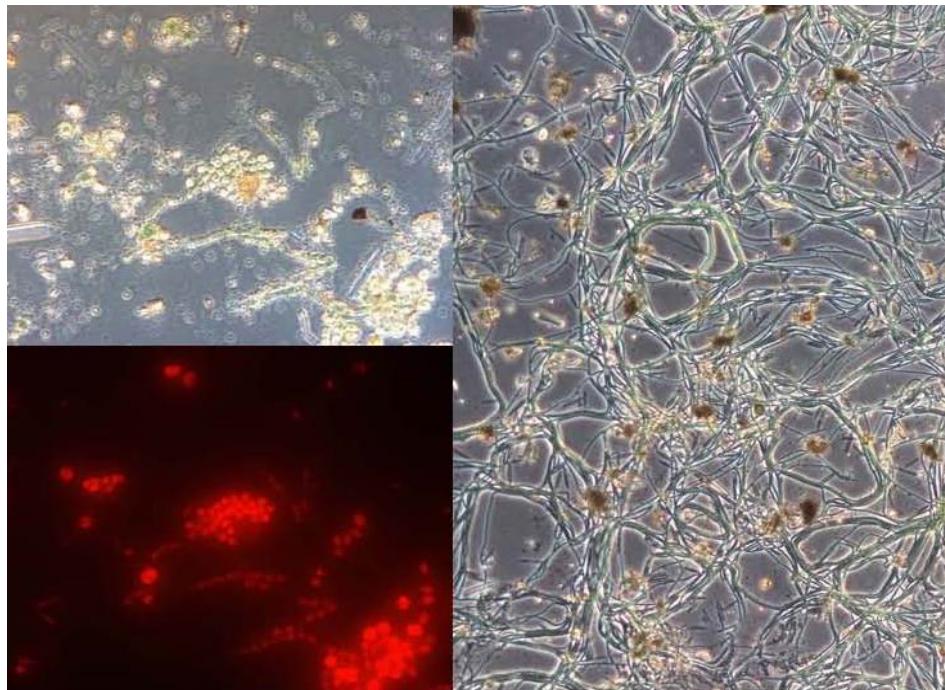


Abb. 11. Mikroskopische Bilder der Bodenflora auf einem Objekträger (inkubiert auf der Bodenoberfläche) mit Cyanobakterien und Grünalgen (Bild links oben). Chlorophyll zeigt eine rote Fluoreszenz, wenn es mit Blaulicht angeregt wird (Bild links unten). Netz von fädigen Cyanobakterien der Gattung *Phormidium* (Bild rechts).

Die Bestimmung terrestrischer Algen ist nicht einfach; viele Formen haben unter den herrschenden Stressbedingungen eine veränderte Zellform und Zellstruktur; die gleiche Art kann verschiedene Formen annehmen. Anreicherungskulturen von Bodenalgen werden einfach angelegt, indem Deckgläser oder Objekträger auf eine Bodenprobe gelegt werden und der Ansatz in einer Petrischale feucht gehalten wird (Abb. 11).

Algenkrusten auf Böden sind ökologisch wichtig, sie verhindern die Bodenerosion, halten Regenwasser zurück und verringern Wasserverluste. Neben Grünalgen (z.B. Arten der Gattungen *Chlorella*, *Chlorococcum* oder *Stichococcus*) sind vor allem Cyanobakterien verbreitet (z.B. *Microcoleus*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Oscillatoria* und *Scytonema*). Die Grünalge *Vaucheria* bildet feine grüne Überzüge, die mit Moosrasen verwechselt werden können. Cyanobakterien, welche Luftstickstoff fixieren, tragen wesentlich zum Stickstoffkreis-Eintrag in den Boden bei. Außerdem kommen in unterschiedlicher Häufigkeit verschiedene Arten von Kieselalgen oder Diatomeen vor, z.B. der Gattungen *Achnantes*, *Navicula*, *Pinnularia* und *Surirella*.

Mikroorganismen auf Baumrinden und Steinen

Besser sichtbar als auf Erde sind an trockenen Standorten Algenbiofilme auf Baumstämmen oder Steinen. Auch hier ist die zeitliche und räumliche Variation der lokalen Umweltfaktoren gross. Die Wasserversorgung ist für die Bildung permanenter Beläge oft limitierend. Bei Baumstämmen finden sich grüne Algenüberzüge meist nur auf der schattigen Westseite, der grüne Überzug gibt dann Auskunft, aus welcher Richtung am häufigsten Regen kommt (Abb. 12).



Abb. 12. Hellgrüner Biofilm auf einem Baumstamm (Leventina).

Raue Rindenstrukturen mit Rissen und Spalten weisen besondere mikroklimatische Zonen mit starkem Windschutz und erhöhter Luftfeuchtigkeit auf, die Artenzusammensetzung variiert über kurze Distanzen. Auf Baumstämmen trifft man häufig verschiedene Arten von *Pleurococcus* an, die einen matt-grünen Überzug bilden. An feuchteren Standorten finden sich auch orange Krusten der Grünalge *Trentepohlia*, welche mit verschiedenen Cyanobakterien vergesellschaftet sein kann.

Schwarze krustenartige Biofilme auf Steinen und Felsen sind durch Cyanobakterien dominierte Lebensgemeinschaften. Der extreme, trockene Standort erlaubt nur ein geringes Wachstum und verlangt für die Zellen besondere Schutzmechanismen. Wichtig sind auch hier die ausgeschiedenen extrazellulären polymeren Substanzen. Diese umgeben die Zellen vollständig und bilden ein Netzwerk, welches für Struktur und Aussehen, sowie physikalisch-chemische Eigenschaften der Komplexe entscheidend ist. Darin werden Wasser und Nährstoffe gespeichert. Solche Biofilme tragen wesentlich zur Verwitterung der Gesteinsunterlage bei; die Zellen scheiden oft Säuren oder Komplex bildende Substanzen aus, welche Gesteinskomponenten in lösliche Form bringen (Brandl, 2008). Extreme terrestrische Standorte sind seit geologischen Zeiten heisse Wüsten wie die Negev und kalte Wüsten, wie sie in der Arktis und der Antarktis vorkommen. Oft ist die Steinoberfläche bedeckt mit einem dunklen glänzenden Überzug vor allem aus farbigen Eisen- und Manganoxiden. Das bei Regen eingedrungene Wasser bringt beim Verdunsten in der Trockenzeit gelöste Stoffe an die Oberfläche. Diese bilden mit den Mikroorganismen der Oberfläche den sogenannten Wüstenlack, der auch auf verschiedenen Gesteinen in den Alpen anzutreffen ist. Ein zusätzlicher Stressfaktor ist die intensive Lichteinstrahlung bei unbedecktem Himmel; sowie der erhöhte Ultraviolettanteil in Höhenlagen. Dicke Scheiden von Exopolymeren (EPS) oder gallertartige Hüllen, die Wasser speichern können und als Schutz oft Licht- oder UV absorbierende Substanzen enthalten, schützen vor Strahlenschäden. Photoautotrophe Organismen scheiden Stoffwechselprodukte aus, die der heterotrophen Bakterienflora als Nahrung dienen. Beträchtliche Mengen vor allem an anorganischen Stoffen werden auch über die Atmosphäre eingebracht (Nass- und Trockendeposition). An Fels-Standorten, wo Stickstoff das Wachstum der Organismen begrenzt, tragen Cyanobakterien, die Luftstickstoff zu fixieren vermögen, zum Wachstum von begleitenden Mikroorganismen bei. Je nach Standortsfaktoren entwickeln sich spezifische Algenpopulationen, häufig sind *Scytonema* und *Gloeocapsa*. Letztere wird auch auf steilen, gelegentlich überfluteten Felsen gefunden, wo es grosse schwarze Krustenflächen bildet, die als „Tintenstriche“ bezeichnet werden (Jaag, 1945) (Abb. 13). Neben verschiedenen Cyanobakterien sind an diesen Standorten auch Grünalgen (*Gloeocystis*, *Pleurococcus* oder *Stichococcus*) und Kieselalgen zu finden (*Fragilaria*, *Melosira*, *Navicula* oder *Pinnularia*).

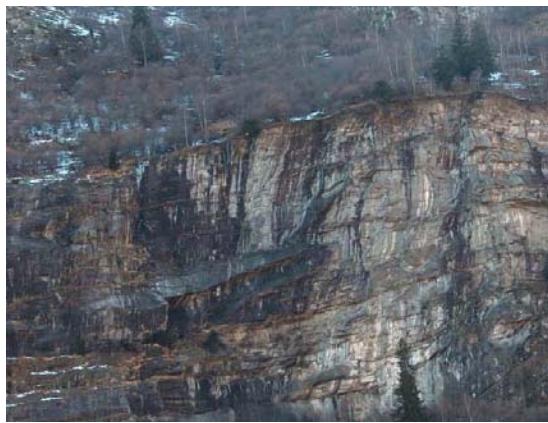


Abb. 13. Dunkle senkrechte Bänder („Tintenstriche“) an den Felswänden in der Leventina. Sie sind Indikatoren für die Stellen, wo bei Regen Wasser über die Felsen rinnt und das Wachstum von spezifischen Algen ermöglicht.

Endolithische Mikroorganismen

Mikroorganismen leben nicht nur auf der Oberfläche von Steinen, sondern dringen auch über Risse und Spalten in diese ein und besiedeln im Innern Hohlräume zwischen Gesteinsteilchen. Sie bilden einige Millimeter unter der Gesteinoberfläche eine gefärbte Schicht. Die über den Organismen liegende Steinschicht ist gleichzeitig ein Schutz vor starker Strahlung und vor Wasserverlust durch Verdunstung. Gallertige, exopolymere Substanzen speichern auch Wasser und verlangsamen den Wasserverlust in Trockenzeiten. Der hellweisse Dolomit und die Rauwacke im Pioratal sind beides poröse Gesteinsarten, die sowohl auf den Oberflächen und wie auch einige mm unter dieser häufig mit pigmentierten Mikroorganismen bewachsen sind; durch Abschlagen der Oberflächenschicht oder an Querschnitten sind Endolithen mit blossem Auge leicht zu erkennen (Abb. 14).



Abb. 14. Endolithische Mikroorganismen in Dolomit und Rauwacke im Pioratal als grüne Schicht etwa 5 mm unter der Gesteinoberfläche (Pfeil).

Die Temperatur variiert im Gebirge im Tages- wie im Jahreslauf stark, bei direkter Bestrahlung erwärmt sich die Gesteinoberfläche auf über 50 °C, während sie bei Nacht bis zum Gefrierpunkt abkühlt. Nährstoffe werden aus dem Gestein gelöst, über die Atmosphäre eingetragen oder gelangen mit dem Sickerwasser zu diesen endolithischen Lebewesen. Endolithische Mikroorganismen sind in alpinen Gebiete von Europa und Nordamerika sowie in Wüsten beschrieben worden. In der Arktis und Antarktis bilden sie oft die einzige Vegetation. Die Algenlisten sind lang, aber kaum zuverlässig, da es schwierig ist, die Arten in den Proben direkt zu bestimmen. Häufig werden Arten die Grünalgen-Gattungen *Chlorella*, *Stichococcus*, *Hormidium* und *Trebouxia* genannt, bei den Cyanobakterien sind *Chroococcidiopsis*, *Gloeocapsa*, *Microcoleus*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Lyngbya* und *Scytonema* besonders häufig vertreten.

Mikroorganismen als Bewohner von Eis und Schnee

An Luft angepasste Mikroorganismen bewohnen auch die Grenzfläche von Eis und Schnee zur Luft und leben in den Poren zwischen den Eiskristallen im Schnee. Algen werden bei hoher Zeldichte als roter Überzug an der Oberfläche von Schneefeldern während der Schneeschmelze im Frühjahr sichtbar (Abb. 15).



Abb. 15. Massenanhäufung von „Schneeaalgen“, z.B. *Chlamydomonas nivalis* auf und im Schnee im Frühling.

Diese der Kälte angepassten Algen finden sich weltweit in polaren und alpinen Regionen und leben ständig bei Temperaturen um den Gefrierpunkt. Sie sind an häufiges Gefrieren und Auftauen im Tageszyklus angepasst. Nährstoffe scheinen durch den atmosphärischen Eintrag genügend vorhanden zu sein; das die Zellen umgebende Wasser zeigt ähnliche hohe Nährstoffkonzentrationen wie sie in eutrophen (= nährstoffreichen) Gewässern vorkommen. Die zu den Grünalgen zählenden Schneeaalgen sind oft intensiv gefärbt, meist durch rote und gelbe

Carotinoide. Roter Schnee ist charakteristisch für Standorte mit hohen Lichtintensitäten; die starke Färbung gilt als Stressreaktion der Zellen auf Licht sowie als Antwort auf den Mangel an einzelnen essentiellen Nährstoffen. Im roten Schnee wird häufig *Chlamydomonas nivalis* gefunden, im grünen und gelb-braunen Schnee kommen weitere Arten von *Chlamydomonas*, sowie auch *Chlorella*, *Mycacanthococcus*, *Raphidonema* und *Scotiella* vor. An Schneeoberflächen konnten bis 10^5 Zellen pro mL oder 10^6 Zellen pro cm^2 Fläche gefunden werden. Im Pioragebiet sind Schneeargen im späten Frühjahr auf vielen Schneeflecken zu finden, später noch im Gebiet der Miniera und beim Lago del Sole.

Die Mikrobenmatten im Feuchtgebiet westlich von Cadagno

Auf verschiedensten Unterlagen bilden sich nicht nur dünne, wenige Mikrometer (μm) bis Millimeter (mm) dicke, zusammenhängende Biofilme, sondern auch dickere Mikrobengemeinschaften, die die Unterlage grossflächig bedecken, Mikrobenmatten. Solche sind schon aus frühen geologischen Zeiten (vor 2 – 3 x 10^9 Jahren) bekannt; deren fossile Reste sind heute als Stromatolithen zum Teil noch erhalten. Am Aufbau dieser Mikrobenmatten sind häufig Cyanobakterien beteiligt, diese ursprünglichen Organismen sind an verschiedenste Standortsbedingungen angepasst. Meist bilden fädige Cyanobakterien an der Mattenoberfläche ein festes Geflecht, das durch die Einlagerung von Exopolymeren verklebt ist und oft als gallertige Haut erscheint. Neben Cyanobakterien findet sich eine Vielzahl anderer, vor allem auch heterotropher Mikroorganismen, die vom Stoffwechsel der Cyanobakterien profitieren und mit diesen eine physiologische Einheit bilden. Eine Mikrobenmatte bildet so ein kleines, praktisch in sich geschlossenes Ökosystem mit einer grossen Diversität an Mikroorganismen. Typisch ist, dass vertikal in der Matte ein Gradient vorliegt, z.B. bezüglich Lichtintensität oder Sauerstoffkonzentration. Dies bewirkt, dass die verschiedenen Organismen sich in engen Bereichen horizontal einschichten. Durch ständige zirkuläre Veränderungen der Umgebung wachsen dicke Polster aus vielen feinen Schichten heran. Eine erste Beschreibung einer marinen Bakterienmatte findet sich in der Flora Danica (1813, Heft 25) (Abb. 16).

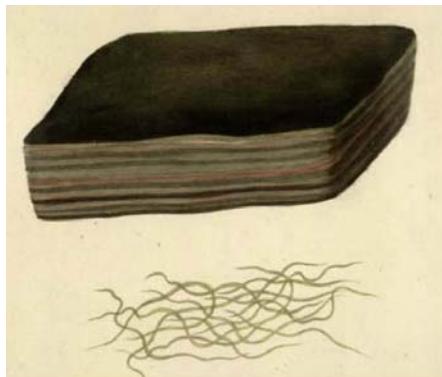


Abb. 16. Erste Darstellung von geschichteten Mikrobenmatten aus Wattgebieten in der *Flora Danica* (1813).

Mikrobenmatten bilden sich auch im Süßwasser in flachen Tümpeln und vorübergehenden Pfützen, besonders wenn der Untergrund reichlich organisches Material enthält. Schöne Beispiele finden sich im Feuchtgebiet westlich des Dörfchens Cadagno (Abb. 17). Dieses ist von vielen kleinen Wasserläufen durchzogen, die durch Grundwasseraufstösse mit Wasser von stark variierendem Gehalt an gelösten Ionen gespeist werden. Ursache dafür ist das Dolomitband mit stark verwittertem Gestein, das die Pioramulde durchzieht, und je nach dem, wie lange das Wasser durch den Gips haltigen Dolomit gesickert ist, variiert der Gehalt an Ionen, besonders derjenige von Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^{-1} und SO_4^{-2} .

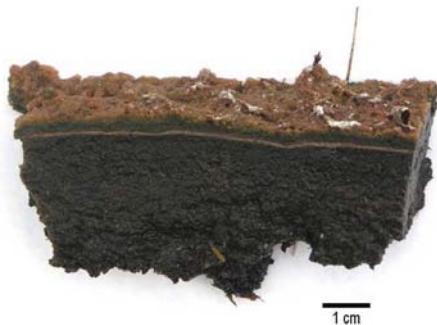


Abb. 17. Geschichtete Mikrobenmatte aus dem Feuchtgebiet westlich des Dörfchens Cadagno di fuori. Die Schnittfläche der Matte zeigt die laminare Schichtung der physiologisch unterschiedlichen Gruppen von Mikroorganismen.

Sauerstoff produzierende Mikroorganismen an der Mattenoberfläche

Die Matten sind wenige Zentimeter bis Dezimeter von Wasser überschichtet, ihre häufig gelb-orange Oberfläche ist meist mit fädigen Cyanobakterien und braunen Kieselalgen bedeckt. Phototrophe Organismen enthalten Chlorophylle und weitere Licht absorbierende Pigmente und sind daher farbig. Die leuchtend gelb-orange Farbe ist durch Carotinoide, die hier als Lichtschutzpigment wirken, und oft zusätzlich noch durch ausgefällte Eisenoxide bedingt. Cyanobakterien und Kieselalgen produzieren im Licht Sauerstoff, was zu einer Sauerstoffübersättigung in den obersten Mattenschichten führt, sowie zur sichtbaren Bildung von Gasblasen (Abb. 18). Letztere führen zum Abheben der Matten-Oberfläche, so dass sich schwimmende Algenhäute bilden, beides eindeutige Signaturen von hoher Photosyntheseleistung.



Abb. 18. Sauerstoffblasen an der Mattenoberfläche bei Sauerstoff-Übersättigung als Resultat der oxygenen Photosynthese bei starker Sonneninstrahlung.

Die Matten-Oberfläche und das darüber liegende Wasser sind so tagsüber reich an Sauerstoff (oxisch). Hebt man die obersten Schichten mit einem Spatel ab, finden wir darunter schwarzen Schlamm (Abb. 17). Wirbelt man diesen auf, entweichen Gasblasen (Methan), und es riecht nach Schwefelwasserstoff (H_2S), typische Signaturen von Methanbakterien und Sulfatreduzenten.

Methanbakterien

Methanbakterien sind charakterisiert durch die Produktion des brennbaren, farblosen Sumpfgases Methan (CH_4). Dieses wird über zwei Wege gebildet:

- a) $4 H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2 H_2O$
- b) $CH_3COO^- + H^+ \rightarrow CH_4 + CO_2$

Bei uns finden wir Methanbakterien ausschliesslich an anoxischen Standorten mit viel organischem Material, häufig in anoxischen Sedimenten und stehenden Sümpfen. Weitere wichtige Standorte von Methanbakterien sind im Wasser wachsende Pflanzen, faulendes Holz, Abfalldeponien, Klärschlamm, und der Verdauungstrakt bei Tier und Mensch.

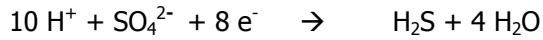
Methanbildende Bakterien sind anaerobe, einzellige Organismen aus dem Reich der Urbakterien, Archaea. Verschiedene gärende Bakterien zersetzen organisches Material, abgestorbene Pflanzen und Tiere, zu kleineren Molekülen, einfachen Zuckern, Aminosäuren und organischen Säuren. Aus diesen entsteht Acetat (CH_3COO^-), Wasserstoff (H_2) und Kohlendioxid (CO_2), die Substrate der Methanbakterien. Bei der Methanbildung wird Energie für die Lebensvorgänge frei. Methanbakterien sind farblos, also auch bei Massenanhäufungen nicht sichtbar. Aber sie hinterlassen als Signatur Methangas: Wenn in einem flachen Tümpel in Feuchtgebiet Cadagno die Randgebiete durch starkes Treten bewegt werden oder das dunkle Sediment aufgerührt wird, steigen Gasblasen auf, die meist auch nach Schwefelwasserstoff riechen. Das Gas lässt sich mit einem Trichter auffangen und anzünden, als Beweis für die Brennbarkeit (Abb. 19). Dies ist exakt der Versuch, den Alessandro Volta (1745-1827) am Langensee in Norditalien 1776 und Jan Ingen-Housz (1730-1799) gemacht haben. Die beiden haben als erste dieses Gas als brennbare Luft beschrieben. Im Winter können die Gasblasen im Eis sichtbar sein.

Abb. 19. Im Sediment entstandenes Methangas wird mit Hilfe eines Trichters aufgefangen.



Sulfatreduzenten

Neben den Methanbakterien verwerten viele andere Bakterien die Abbauprodukte der Fermentierer für ihre eigenen Stoffwechselprozesse. Sulfat-Reduzenten übertragen die Elektronen aus energiereichen Abbauprodukten in einer Art anaerober Atmung auf Sulfat, dabei entsteht Sulfid, mit dem typischen Geruch von faulen Eiern. Dieses reagiert mit Schwermetallen zu Metallsulfiden. Anoxische Sedimente und Schlämme etwa 1 cm unter der Oberfläche werden durch die Ausfällung von Eisensulfid (FeS) dunkelbraun bis schwarz (Abb. 17).



Im Schlamm im Sumpfgebiet von Cadago finden sich neben Eisen und Mangan aus den umliegenden Gesteinen auch Spuren verschiedener Schwermetalle, wie Zink, Kupfer, Chrom, Cadmium und Blei. Diese wurden über die Atmosphäre aus dem südlichen Tessin und den Industriegebieten der Po-Ebene in die Tessiner Alpen eingetragen.

Der im Schlamm durch die Sulfat-Reduzenten gebildete Schwefelwasserstoff diffundiert auch zur Sedimentoberfläche und oxidiert bei Kontakt mit Sauerstoff spontan zu elementarem Schwefel (S^0). Weisse und gelbe Ablagerungen und Niederschläge an der Mattenoberfläche oder auf der Wasservegetation sind Zeichen dieses Oxidationsprozesses (Abb. 20).



Abb. 20. Mattenoberfläche mit weissen und gelblichen, biotischen und abiotischen Ablagerungen von molekularem Schwefel an der Sauerstoffgrenzzone.

Chemolithotrophe Bakterien

Chemolitho(auto)trophe Bakterien gewinnen die für die Lebensvorgänge notwendige Energie durch Oxidation reduzierter anorganischer Verbindungen (lithos = Stein), wie molekularer Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und andere reduzierte Schwefelverbindungen, und auch reduzierte Metallionen. Da gleichzeitig reduzierte Verbindungen und Sauerstoff benötigt werden, sind diese Organismen an die Grenzschichten zwischen anoxischen und oxischen Verhältnissen gebunden. Beispiel Sulfidoxidation:



Die frei werdende Energie wird durch die Bakterien zur Assimilation von Kohlendioxid aus der Luft zu Biomasse verwendet. Erfolgt die Oxidation nicht vollständig, so wird wie bei der spontanen chemischen Oxidation zuerst elementarer Schwefel gebildet, der intrazellulär gespeichert oder extrazellulär ausgeschieden wird. Spuren dieser Oxidationsprozesse finden sich als farbige Niederschläge, Ausfällungen von weissem oder gelbem elementarem Schwefel. Sie sind von den Produkten der chemischen Oxidation nicht zu unterscheiden.

In unserer sauerstoffreichen Atmosphäre oxidieren viele Metalle ohne das Zutun von Mikroorganismen: Eisen rostet und Kupfer bekommt Grünspan. Wo oxische und anoxische Bedingungen sich berühren, siedeln sich häufig besondere Metall-oxidierende Mikroorganismen, an Reduzierte Eisenverbindungen sind löslich, oxidierte unlöslich, so bilden Metalloxide an der Grenzschicht einen braun-roten Überzug (Abb. 21). In Mooren und Sumpfgebieten finden sich Eisen-Oxidierer nahe der Sedimentoberfläche, es sind Arten von *Leptotrix*, *Sphaerotilus* und *Gallionella*. Die Zellen lagern Eisenoxide in die Zellwand ein und erscheinen daher rötlich-braun. Einige dieser Bakterien oxidieren auch Mangan. In flachen Tümpeln sind Manganoxide als silbrige Filme auf der Wasseroberfläche zu erkennen, ähnlich einem feinen Ölfilm (Abb. 22).

Tabelle 3 gibt einen Überblick über Bakterien, die an der Schwefel- und Metalloxidation beteiligt sind, und deren sichtbare Spuren. Weitere chemolithoautotrophe Organismen oxidieren Wasserstoff (H_2 , z.B. *Hydrogenobacter*), Ammonium (NH_4^+ , z.B. *Nitrosomonas*) und Nitrit (NO_2^- , z.B. *Nitrobacter*).

Tab. 3 An der Schwefel- und Metalloxidation beteiligte Bakterien

Reduzierte Verbindung, Edukt	Typische Gattungen	Endprodukt	Sichtbare Signaturen
Schwefelwasserstoff H_2S	<i>Acidithiobacillus</i>	$\text{S}^\circ, \text{SO}_4^{2-}$	weisser/gelber Niederschlag
Reduzierte Schwefel-Verbindungen: $\text{S}^\circ, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	<i>Acidithiobacillus</i>	SO_4^{2-}	keine
Reduziertes Eisen Fe^{2+}	<i>Acidithiobacillus, Leptotrix, Gallionella</i>	Fe^{+3}	Ablagerungen von Eisenoxid
Reduziertes Mangan Mn^{2+}	<i>Leptotrix</i>	$\text{Mn}^{+4} (\text{MnO}_2)$	Schwimmschicht von Mn-oxid



Abb. 21. Ausfällungen von Eisenoxiden in stehenden Tümpeln oder langsam fliessenden Gewässern.



Abb. 22. Oberflächenfilm mit Metalloxiden in einem Moortümpel.

Phototrophe Schwefelbakterien

Von Auge sichtbar sind hingegen die in der obersten anoxischen Zone wachsenden Purpurschwefelbakterien (=phototrophe Schwefelbakterien, z.B. *Chromatium*, *Amoebobacter*, *Thiocystis*), die durch anaerobe bakterielle Photosynthese H_2S zuerst zu elementarem Schwefel S^0 , dann diesen zu Sulfat entgiften. Licht wird für die Reduktion von CO_2 zu Assimilationsprodukten, $\langle\text{CH}_2\text{O}\rangle_n$, benötigt, im Gegensatz zur aeroben Photosynthese kommt es nicht zur Freisetzung von O_2 .



Die phototrophen Schwefelbakterien sind durch verschiedene Carotinoide rot, purpur bis bräunlich gefärbt. Durch sorgfältiges Ablösen der Cyanobakterienschicht lässt sich die dünne purpurfarbige Schicht freilegen. Oft liegen auch kleinere oder grössere freie purpurne Flecken von phototrophen Schwefelbakterien direkt an der Mattenoberfläche (Abb. 23).



Abb. 23. Mattenoberfläche mit Purpurschwefelbakterien.

Alle aufgezählten Organismen, Diatomeen, Cyanobakterien, Thiobazillen, phototrophe Schwefelbakterien und Sulfatreduzenten, verlangen für ihre Lebensaktivitäten verschiedene Umweltbedingungen, die aber an einer bestimmten Stelle im Ökosystem kaum gleichzeitig vorkommen. Eine

Mikrobenmatte ist daher vertikal deutlich geschichtet, innerhalb von Bruchteilen von Millimetern verändern sich die physikalischen und chemischen Umweltfaktoren massiv, bestimmt durch die vertikal vorliegenden physikalisch-chemische Gradienten. Besonders deutlich trifft dies für Lichtintensität, pH, Sauerstoff und Schwefelwasserstoff zu. Die Konzentrationen der beiden letzten sind massgebend für das Redoxpotential. Damit eng gekoppelt ist der Redoxzustand von wichtigen Elementen, von Metallionen, und den Schwefel- und Stickstoffverbindungen. Die physikalisch-chemischen Gradienten entstehen hauptsächlich durch die Aktivitäten der Mikroorganismen im Biofilm, O₂ Verbrauch in den oberen Schichten, H₂S Produktion in den tieferen Sedimentschichten. Mit feinen Mikroelektroden können die Konzentrationsänderungen als Funktion der Mattentiefe erfasst und daraus Stoffflüsse und Aktivitäten der beteiligten Organismen berechnet werden.

An Stellen, wo die Bakterienmatten kompakt gepackt sind, können mit einem Messer die obersten Schichten angeschnitten und Profile erstellt, und die verschiedenen Lagen der gefärbten Mikroorganismen wie auch von S°-Fällungen sichtbar gemacht werden (Abb. 17).

Die organismische Zusammensetzung der verschiedenen Mattenschichten lässt sich durch Pigmentanalysen bestätigen. Chlorophyll a mit einem Absorptionsmaximum bei 680 nm weist auf Cyanobakterien und eukaryotische höhere Algen hin. Phycobilin haben einen Absorptionsbereich von 550 - 590 nm und sind Indikatoren für Cyanobakterien, und Maxima im nahen Infrarot bei 800 und 850 nm sind charakteristisch für phototrophe Purpurbakterien.

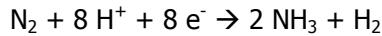
Cyanobakterien und phototrophe Schwefelbakterien sind als photosynthetische Organismen nur im Licht aktiv, daher findet in den Matten ein Tageszyklus bezüglich der vertikalen Verteilung von Sauerstoff und Sulfid statt. Bei Tag drückt die O₂-Produktion die Sauerstoffgrenzschicht nach unten, nachts bewegt letztere sich bei gleichbleibender H₂S-Produktion zur Oberfläche.

Als Folge hoher Lichtintensitäten mit hohem UV-Anteil haben verschiedene phototrophe Mikroorganismen Schutzmechanismen entwickelt. Einige sind zum Beispiel fähig, sich durch Eigenbewegung aktiv in die Zone der günstigsten Lichtbedingungen zu verschieben, durch Kriechen oder durch Schwimmbewegung mit Flagellen. Cyanobakterien bewegen sich bei Schwachlicht oder in der Dunkelheit zur Mattenoberfläche, im Licht in grössere Tiefen. Sulfidoxidierer wie *Beggiatoa* wandern ebenfalls in den Matten, sie folgen im Tageslauf der Grenzschicht Sulfid – Sauerstoff.

Stickstoff-Fixierung und symbiotische Lebensweise von Bakterien mit Erlen

Die meisten Organismen können ihren Bedarf an Stickstoff zur Synthese von Eiweissen und Nukleinsäuren nur über gebundenen anorganischen (Nitrat oder Ammonium) und organischen Stickstoff (Aminosäuren und kleine Eiweisse) decken; das riesige Reservoir an Luftstickstoff (N₂, 79% unserer Atmosphäre) ist ihnen nicht zugänglich. Einzelne Cyanobakterien und heterotrophe Bakterien

besitzen dagegen die Fähigkeit, den Luftstickstoff direkt zu nutzen und zu Ammonium/Ammoniak ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$) zu reduzieren.



Stickstofffixierer wie *Azospirillum* leben frei in der Erde und sind besonders in der Rhizosphäre angereichert. *Rhizobium*-Arten sind bekannt für ihre Symbiose mit Leguminosen. Sie geben den gebundenen Stickstoff direkt an ihre Wirtspflanze ab und werden im Gegenzug von den Pflanzen reichlich mit Kohlehydraten versorgt. Die symbiotischen Rhizobien bilden tumorartige Wurzelknöllchen, die bei sorgfältigem Ausgraben von Bohnen-, Erbsen- oder Kleeplänen gut beobachtet werden können.

Wichtige Pflanzensymbionten sind auch die Gram-positiven Actinomyceten mit der Gattung *Frankia* (Welsh et al., 2008). Diese wachsen ebenfalls als Knöllchen-Wurzelsymbionten bei Erlen und binden molekularen Stickstoff der Luft als Ammonium. Erlen gedeihen oft auf Stickstoff armen Böden, im Pioragebiet ausgedehnt an den Hängen südlich der Murinascia. Beim Ausgraben junger Erlenpflanzen können solche Wurzelknöllchen leicht gefunden werden (Abb. 24).



Abb. 24. Wurzelknöllchen (Pfeil) an Erlenwurzeln nach Infektion mit *Frankia* sp. (Bild T. Horath).

Zusammenfassung

Im Val Piora finden wir auf kleinstem Raum auf eine grosse Zahl verschiedener mikrobieller Ökosysteme, wie sie nur selten an einem Standort in der Schweiz zu finden ist. Der aufmerksame Beobachter kann leicht – auch ohne

mikroskopische Hilfsmittel ! – Massenansammlungen oder sichtbare Spuren von Mikroorganismen wie Farbpigmente, Gerücke und Gasblasen erkennen und dadurch Einblicke in die vielfältige Welt der meist unsichtbaren Kleinstlebewesen gewinnen.

Literatur

- Bachofen R., Brandl H., Schanz F.** (2006) Mikroskopisch klein, aber doch sichtbar! Ein Feldführer für Mikroorganismen. 209. Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich, 148 S. (siehe auch www.ngzh.ch)
- Brandl H.** (2007) Der historische Bergbau im Val Piora und Val Cadlimo – Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Metallen, Documenta Centro Biologia Alpina, Piora, 106-111.
- Düggeli M.** (1919) Die Schwefelbakterien. 121. Neujahrsblatt der Naturforschenden Gesellschaft Zürich.
- Düggeli M.** (1924) Hydrobiologische Untersuchungen im Pioragebiet. Bakteriologische Untersuchungen am Ritomsee. Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie 2, 62 – 205.
- Dyer B.D.** (2003) A Field Guide to Bacteria. Cornell University Press, Ithaca, USA, 355 S.
- Jaag O.** (1945) Untersuchungen über die Vegetation und Biologie der Algen des nackten Gesteins in den Alpen, im Jura und im schweizerischen Mittelland. Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz 9, 1-560.
- Peduzzi R., Bachofen R., Tonolla M.** (Hrsg.) (1998). Lake Cadagno: a meromictic alpine lake. Documenta dell'Istituto Italiano di Idrobiologia 63, Verbania Pallanza. www.cadagno.ch
- Walter X.A., C. Dupraz C., Zopfi J.** (2007) Les tapis microbiens et la dynamique hydrique de la tourbiere de Cadagno, Documenta Centro Biologia Alpina, Piora, 26-44.
- Welsh A., Mirza S., Hahn D.** (2007) *Frankia* (Documenta Centro di Biologia Alpina, Piora). Analyses of uncultured *Frankia* populations in root nodules of different alder species, Documenta Centro Biologia Alpina, Piora, 98-105.
- Wilson, E.O., Peter F.M.** (1988) Biodiversity. National Academic Press, Washington, USA, 521 S.

VIII. Analyses of uncultured *Frankia* populations in root nodules of different alder species

Allana Welsh, Babur S. Mirza, Dittmar Hahn

Members of the genus *Frankia* are described as nitrogen-fixing actinomycetes that form root nodules in symbiosis with more than 200 species of non-leguminous woody plants in 25 genera of angiosperms (Fig. 1) (Benson & Silvester 1993). *Frankia* populations inhabit two distinct ecological niches, the root nodule and the soil. Studies on *Frankia* populations in both niches, however, have been impeded by problems encountered in the isolation and identification of frankiae (Huss-Danell 1997). *Frankia* is usually isolated from root nodules, a natural locale of enrichment for this organism. Different isolation procedures have successfully been used during the last 20 years and hundreds of isolates are available. However, no general isolation protocols from nodules have been developed, and only a small percentage of isolation attempts succeeds (Benson & Silvester 1993). Data on *Frankia* populations in soils are scarce (Hahn et al. 1999) and only one successful isolation of *Frankia* directly from soil has been reported (Baker & O'Keefe 1984).



Fig. 1 Stand of *Alnus viridis* in the Piora Valley, Switzerland

Problems on the isolation of frankiae have been attributed to long generation times, the lack of specific nutritional requirements of pure cultures obtained so far and the large variability of isolates combined in the genus *Frankia* (Hahn

2007). Isolation and cultivation, however, are prerequisites for the characterization and identification of *Frankia* by traditional microbiological techniques focusing on the analysis of protein and isoenzyme patterns, susceptibility and resistance to antibiotics, sugar or fatty acid composition, or of other criteria such as pigment production (Hahn 2007).

In recent years, growth-dependent analysis methods have increasingly been supplemented or replaced with molecular methods as powerful tools to study *Frankia* populations unbiased by the limitations of culturability. These new procedures reveal much about the genetic diversity and distribution of *Frankia*, and have refined and expanded knowledge about endophyte-host specificities (Hahn et al. 1999). Polymerase chain reaction (PCR) assisted retrieval of 16S and 23S rRNA genes, followed by cloning and comparative sequence analyses, have been used to characterize uncultured endophytes from a wide range of actinorhizal plants (Mirza et al. 1992, Hönerlage et al. 1994, Mirza et al. 1994, Clawson et al. 1998, Clawson & Benson 1999). However, rRNA genes of *Frankia* isolates generally display only small sequence differences (Hahn et al. 1989) which permits differentiation among *Frankia* isolates of different host infection groups. However, they are of limited value for classification within the genus (Hahn et al. 1989, Nazaret et al. 1991). This is also true for classification attempts with other genes of phylogenetic significance such as the recA protein (Marechal et al. 2000), or glutamine synthetase (*glnA* or *glnII*) (Cournoyer & Lavire 1999, Clawson et al. 2004, Gtari et al. 2004, Vanden Heuvel et al. 2004) or nitrogenase (*nifH*) genes (Cournoyer et al. 1993, Jeong et al. 1999). Comparative analyses using these genes are generally consistent with that of 16S rRNA gene-based classification for the genus *Frankia*.

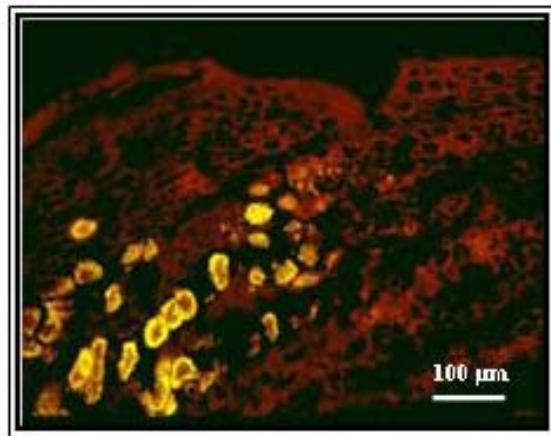


Fig. 2 Epifluorescence micrograph of a section through a root nodule of *A. viridis* after *in situ* hybridization with a Cy3-labeled, 23S rRNA-targeted probe specific for this bacterium.

Based on an increased database of sequences from *nifH*, the structural gene for the key enzyme nitrogenase reductase, however, recent studies have demonstrated some potential of this gene for taxonomic analyses of pure cultures of *Frankia* on a lower taxonomic level. Similar to previous studies on a hypervariable insertion in Domain III of the 23S rRNA gene (Hönerlage et al. 1994), comparative *nifH* gene sequence analyses allowed us to assign strains to subgroups. These were congruent with those established by comparative analysis of the insertion in the 23S rRNA gene (Hönerlage et al. 1994). As a follow-up to that study that focused on pure cultures, we attempted to demonstrate the utility of *nifH* gene sequences for the characterization of uncultured *Frankia* populations in root nodules of different plant species. These plant species belonged to the *Alnus* host infection groups and consisted of *A. viridis* from a natural setting at the Lago di Cadagno (Fig. 1), and of *A. glutinosa* and *A. incana* growing sympatrically at a managed site close to Lumino, TI. Root nodules were collected at the end of August and checked for the presence of frankiae by *in situ* hybridization with 23S rRNA-targeted, Cy3-labeled oligonucleotide probes as described before (Zepp et al. 1997). Clusters of vesicles, the locale of nitrogen fixation of these frankiae, were identified in thin sections of nodules harvested from all alder species (Fig. 2) thus confirming the presence of frankiae in these nodules (Hahn et al. 2000).

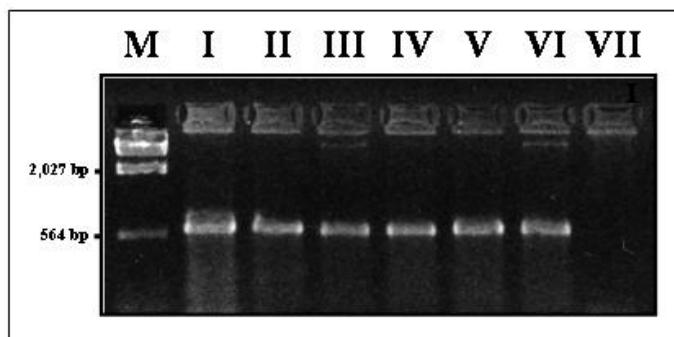


Fig. 3 Gelelectrophoretic analysis of *nifH* gene fragments generated from DNA extracts of single lobes of root nodules from different alder species (I, II, III, *A. glutinosa*, IV, *A. incana*, V, *A. viridis*, VI, positive control strain ArI3, VII, negative control, M, size marker lambda HindIII).

Nodules from these alders were washed with distilled water, and ground in 1 ml sterile water using a mortar and pestle. DNA from released *Frankia* populations as well as from pure cultures was then extracted using the QuickClean DNA gel extraction kit (GenScript, Piscataway, NJ). The *nifH* genes of pure cultures as well as of uncultured *Frankia* populations in nodules were amplified using primers targeting conserved regions on the *nifH* gene of *Frankia* strains (Fig. 3). Amplified 606-bp-fragments were subsequently cloned (Maunuksela et al. 1999)

and sequenced using a CEQ 8800 capillary action sequencer (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Sequences from *nifH* gene fragments of 41 *Frankia* strains and amplified DNA of uncultured frankiae from nodules were compiled for this analysis. These sequences were aligned using Sequencher 4.2.2 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI), CLUSTAL X and MacClade 4.05 (Thompson et al. 1997, Maddison & Maddison 1999). Distance-based neighbor-joining analyses were performed using the GTR model in PAUP*4.0b10 (Swofford 2002). Sequences from multiple root nodule homogenates of the same host plant that had identical sequences were not included in the final analyses. Confidence in the topology was gauged using bootstrap re-sampling methods in PAUP* and included 10,000 replications and only those values of at least 70 % (Fig. 4).

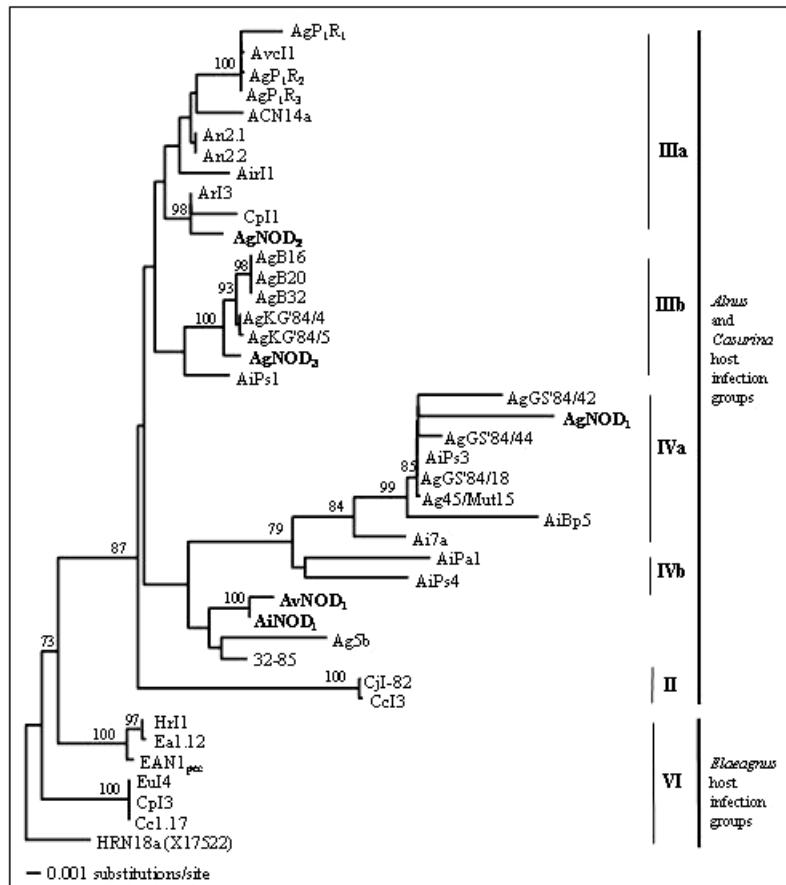


Fig. 4 Neighbor-joining tree showing the phylogenetic position of *nifH* gene clones generated from DNA of uncultured *Frankia* populations in root nodules of *A. glutinosa* (AgNOD), *A. incana* (AiNOD) and *A. viridis* (AvNOD), within the *Alnus* host infection group. The phylogram was created using PAUP*4.0b10 with 10,000 replicates. Numbers reflect bootstrap support (BS) measures with 10,000 replicates and only include those measures over 70 %.

The phylogeny for *Frankia* strains and uncultured *Frankia* populations in root nodules of the three alder species analyzed based on comparative sequence analysis of *nifH* gene fragments (Fig. 4) was generally consistent with phylogenies that used sequences of other genes for comparative analyses (Hönerlage et al. 1994, Hahn 2007). Root nodule populations generally clustered into established subgroups within the *Alnus* host infection group, i.e., subgroups IIIa, IIIb and IVa (Hönerlage et al. 1994). *Frankia* populations in root nodules from *A. glutinosa* showed remarkably higher sequence variability than those in nodules from sympatric *A. incana* or from *A. viridis*. These populations represented all subgroups IIIa, IIIb and IVa, whereas *A. viridis* and *A. incana* root nodule *Frankia* were less diverse and only showed 1 unique sequence for each host plant. However, they did not cluster within any previously described *Frankia* host infection subgroups, and thus may represent unique diversity in this genus (Fig. 4).

These results demonstrate the utility of *nifH* gene fragments for phylogenetic analyses of both cultured and uncultured frankiae on a phylogenetic level lower than the genus level. Comparative sequence analyses of *nifH* gene fragments provide information for preliminary descriptions of the unique diversity within the genus *Frankia* in pure cultures and in root nodules, and have the potential to aid in the emendation of species within this poorly described, critically important genus. The detection of significant differences in diversity of nodule populations of sympatric alders, i.e., *A. glutinosa* and *A. incana*, also suggests potential host-dependent selection of the endophyte by the plant, and thus provides some baseline data for potential improvements of the symbiosis for economic purposes.

Bibliographie

- Baker D, O'Keefe D** (1984) A modified sucrose fractionation procedure for the isolation of frankiae from actinorhizal root nodules and soil samples. *Plant Soil* 78: 23-28
- Benson DR, Silvester WB** (1993) Biology of *Frankia* strains, actinomycetes symbionts of actinorhizal plants. *Microbiol. Rev.* 57: 293-319
- Clawson ML, Benson DR** (1999) Natural diversity of *Frankia* strains in actinorhizal root nodules from promiscuous hosts in the family *Myricaceae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4521-4527
- Clawson ML, Bourret A, Benson DR** (2004) Assessing the phylogeny of *Frankia*-actinorhizal plant nitrogen-fixing root nodule symbioses with *Frankia* 16S rRNA and glutamine synthetase gene sequences. *Molec. Phylo. Evol.* 31: 131-138
- Clawson ML, Caru M, Benson DR** (1998) Diversity of *Frankia* strains in root nodules of plants from the families Elaeagnaceae and Rhamnaceae. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3539-3543

- Cournoyer B, Gouy M, Normand P** (1993) Molecular phylogeny of the symbiotic actinomycetes of the genus *Frankia* matches host-plant infection processes. *Molec. Biol. Evol.* 10: 1303-1316
- Cournoyer B, Lavire C** (1999) Analysis of *Frankia* evolutionary radiation using *glnII* sequences. *FEMS Microbiol. Lett.* 177: 29-34
- Gtari M, Brusetti L, Skander G, Mora D, Boudabous A, Daffonchio D** (2004) Isolation of *Elaeagnus*-compatible *Frankia* from soils collected in Tunisia. *FEMS Microbiol. Lett.* 234: 349-355
- Hahn D** (2007) Polyphasic taxonomy of the genus *Frankia*. In: Pawłowski, K, Newton, WE (eds), Nitrogen-fixing actinorhizal symbioses. Springer Verlag, Berlin, Germany (Chapter 2)
- Hahn D, Dorsch M, Stackebrandt E, Akkermans ADL** (1989) Synthetic oligonucleotide probes for identification of *Frankia* strains. *Plant Soil* 118: 211-219
- Hahn D, Nickel A, Dawson J** (1999) Assessing *Frankia* populations in plants and soil using molecular methods. *FEMS Microbiol. Ecol.* 29: 215-227
- Hahn D, Nickel A, Zepp K, Dawson J** (2000) Molecular methods for the analysis of *Frankia* populations in plants and soil. In: Subba Rao, NS, Dommergues YR (eds), Microbial interactions in agriculture and forestry, Vol 2. Science Publishers, Inc., Enfield (NH), USA, pp. 15-60
- Hönerlage W, Hahn D, Zepp K, Zeyer J, Normand P** (1994) A hypervariable 23S rRNA region provides a discriminating target for specific characterization of uncultured and cultured *Frankia*. *System. Appl. Microbiol.* 17: 433-443
- Huss-Danell K** (1997) Actinorhizal symbioses and their N₂ fixation. *New Phytol.* 136:375-405
- Jeong SC, Ritchie NJ, Myrold DD** (1999) Molecular phylogenies of plants and *Frankia* support multiple origins of actinorhizal symbioses. *Mol. Phylogenetic Evol.* 13: 493-503
- Maddison WP, Maddison DR** (1999) MacClade: analysis of phylogeny and character evolution. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA
- Marechal J, Clement B, Nalin R, Gandon C, Orso S, Cvejic JH, Bruneteau M, Berry A, Normand P** (2000) A *recA* gene phylogenetic analysis confirms the close proximity of *Frankia* to *Acidothermus*. *Intl. J. System. Evol. Microbiol.* 50: 781-785
- Maunuksela L, Zepp K, Koivula T, Zeyer J, Haahtela K, Hahn D** (1999) Analysis of *Frankia* populations in three soils devoid of actinorhizal plants. *FEMS Microbiol. Ecol.* 28: 11-21
- Mirza MS, Hahn D, Akkermans ADL** (1992) Isolation and characterization of *Frankia* strains from *Coriaria nepalensis*. *System. Appl. Microbiol.* 15: 289-295
- Mirza MS, Hameed S, Akkermans ADL** (1994) Genetic diversity of *Datisca cannabina*-compatible *Frankia* strains as determined by sequence analysis of the PCR-amplified 16S rRNA gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2371-2376
- Nazaret S, Cournoyer B, Normand P, Simonet P** (1991) Phylogenetic relationships among *Frankia* genomic species determined by use of amplified 16S rRNA sequences. *J. Bacteriol.* 173: 4072-4078

- Swofford DL** (2002) PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG** (1997) The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res. 25: 4876-4882
- Vanden Heuvel BD, Benson DR, Bortiri E, Potter D** (2004) Low genetic diversity among *Frankia* spp. strains nodulating sympatric populations of actinorhizal species of Rosaceae, *Ceanothus* (Rhamnaceae) and *Datisca glomerata* (Datiscaceae) west of the Sierra Nevada (California). Can. J. Microbiol. 50: 989-1000
- Zepp K, Hahn D, Zeyer J** (1997) Evaluation of a 23S rRNA insertion as target for the analysis of uncultured *Frankia* populations in root nodules of alders by whole cell hybridization. System. Appl. Microbiol. 20: 124-132

IX. Der historische Bergbau im Val Piora und Val Cadlimo – Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Metallen

Helmut Brandl

Bergbau im Val Piora und Val Cadlimo

Das Val Piora war schon im 15. Jahrhundert für seine vielfältigen Mineralien bekannt (Kropf & Leupin 2000). Offenbar wurde aber der Abbau bald eingestellt und Mineralien schon damals von Indien kostengünstiger importiert. Erste Naturbeschreibungen und mineralogische Beobachtungen in der Region Piora stammen vom Zürcher Arzt, Naturforscher und Universalgelehrten Johann Jakob Scheuchzer (1673-1733), welcher das Pioratal auf seinen Wanderungen besucht hat (zitiert in Kropf & Leupin 2000): „*Auf dieser Berghöhe Foggio, da wir jetzt sind, lieget einer Seits das Livinerthal [damals noch zum Kanton Uri gehörend] vor unseren Augen, ander Seits gegen Bündten zwei namhafte zwischen hohen Bergwänden eingeschlossene Berg-Seen; der erste und grössere heisset Lago di Rottam ist ungefehr eine halbe Meile lang, und oben an demselben eine dem San Carolo geweihte Kapelle; der kleinere und obere, Lago di Tom, welcher sein Wasser jenem, wie der dem Tesin-Fluss, zustellt, wesswegen ich in den Gedanken stehe, dass diese zwei Seen und die darin fliessende namhafte Bäche so mal als die Gotthardischen Seen unter die Haupt-Urquelle des Tesin gezehlet werden; denn in diesen See fliesset durch das Val Piora ein grosser wilder schaumnichter Bach, dem wir jetzt bis in das hohe Thal St. Maria nachgehen, da mit Lust zu sehen, wie einer Seits die ersten Bachlein des Tesins gegen Abend abfliessen, und den ungestümen Piora-bach ausmachen, ander Seits aber auch kleine Bächlein die ursprüngliche Quellen des mittleren Rheins abgeben, welcher gegen Morgen durch das Medelser-Thal abfliesst. Nachdem wir diesen Bächlein nachgewandert, kamen wir endlich mit müden Gliedern in das Hospital di S. Maria, [...] An den Weg zwischen der Höhe des Bergs und Ayrol kann ein Liebhaber der Mineralien Achtung geben auf grünlichte mit einer schimmernden Blende, Mica, die Augen anziehende Steine, in welcher sich zwölfsseitige rohe Granate finden, die meistens einer Haselnuss gross, welcher Knopfweise aus den Felsen hervorstehen. Diese Felsensteine sind insgemeine mit einer rötlichen Tinctur besprengt, welche ich nicht so fast vor martialisch als aber vor einen wirklichen Granatfluss ansehe. [...]*“.

Der Mineralreichtum (z.B. Granat) der Gegend von Piora wurde auch vom Zürcher Naturforscher, Publizisten, Staatsmann und Seidenfabrikanten Hans Conrad Escher von der Linth beschrieben (Kropf & Leupin 2000). Während einer seiner Wanderungen malte er ein Bild des Ritomsees vom Standort der heutigen Staumauer aus (Abb. 1).



Abb. 1. Gemälde des Ritomsees, von Hans Conrad Escher von der Linth (1817), und die entsprechende Aufnahme aus dem Jahre 2003 (Foto H. Brandl). Das Aquarell wird mit Bewilligung der Linth-Escher-Stiftung reproduziert. Das Original befindet sich im Besitz der Graphischen Sammlung der ETH Zürich.

Neben einer Vielfalt von Mineralien im Val Piora (z.B. Dolomit, Quarz, Disthen, Limonit, Biotit, Actinolit, Hornblende, Muskovit, Turmalin, Granat) ist auch ein kleineres Galenit- sowie ein größeres Apatit-Vorkommen nach dem Übergang „Bocchetta della Miniera“ vom Val Piora ins Val Cadlimo („Piatto della Miniera“) bekannt. Drei Gänge von einigen Dutzend Metern Länge mit silberhaltigem Galenit (Bleiglanz, Bleisulfid) wurden kurz nach deren Prospektion im Jahre 1904 durch die „Gothard Mining and Engineering Company, New York“ von Mariani beschrieben (Mariani 1905): „*La galena argentifera riempie queste fessure, irregolarmente commista alla matrice o ganga.*“ In einer Fussnote bemerkte Mariani dazu: „*Da alcune analisi chimiche fatte nel settembre 1904 di campioni di questa galena, risultò come essa nella categoria delle galene povere di argento, contenendo circa 280 gr. di argento per tonnellata. Le analisi fatte nel Laboratorio Chimico del Reale Istituto Tecnico Superiore di Milano, diedero i*

seguenti risultati: Piomo 77,67 per cento; Argento gr 243 per tonn. Un altro campione diede all'analisi un risultato un po' differente, e cioè: Piombe 77,69 per cento; Argento gr. 320 per tonn. [...]" Die Abbautätigkeiten wurden aber 1906 eingestellt, zum einen aus infrastrukturellen Gründen (keine Strassenzufahrt vorhanden!), zum anderen aus klimatischen Rahmenbedingungen (schneefrei nur während ca. zwei Monaten im Jahr!). Überreste der Knappenhäuser sind aber heute noch zu sehen (Abb. 2).

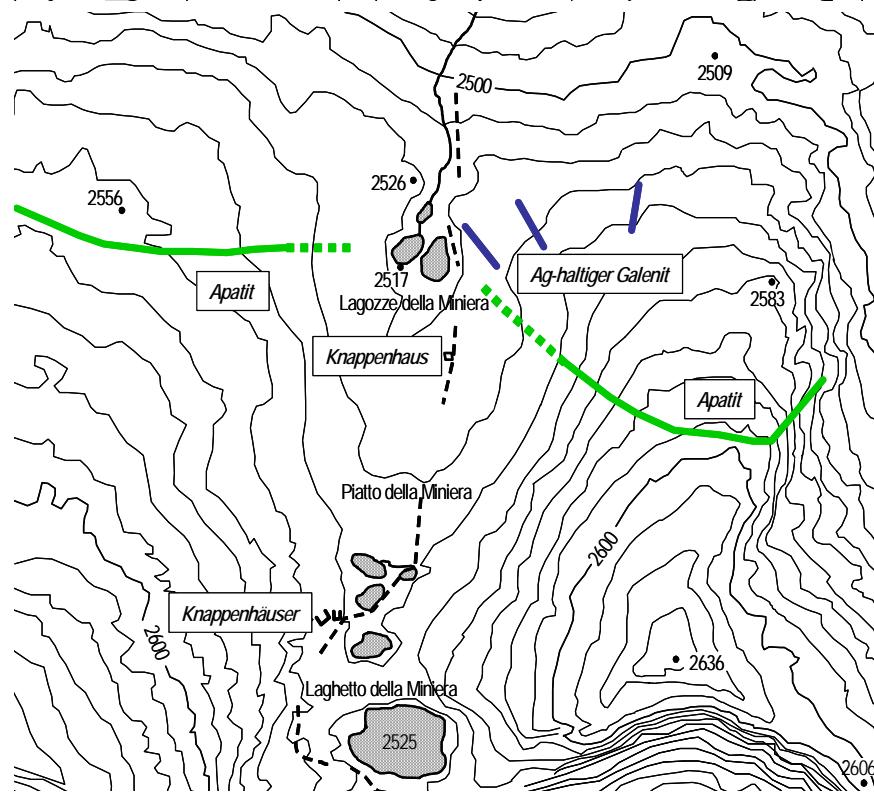


Abb. 2. Schematische Karte der Vorkommen von Apatit (grün) und Galenit (blau) auf dem Piatto della Miniera (modifiziert nach Zweifel 1954).

Eine ausführlichere Beschreibung der „Bleigrube (Silbermine) im Cadlimotal“ wird von Preiswerk gegeben (Preiswerk 1918): „Nördlich vom Lago di Dentro sind ums Jahr 1905 auf bleiglanzführenden Gängen Schürfarbeiten ausgeführt worden. Es sind in Abständen von je zirka 50 m drei Gänge entdeckt worden, die N 20° W streichen und 70° nach Osten einfallen. Sie setzen im plattigen NNE fallenden Orthogneis des Val Cadlimo auf. Der westliche ist der reichste, die anderen zeigen nur spärlich Erzspuren. Die Gangmasse ist Quarz mit schwach silberhaltigem Bleiglanz. Das Erzmittel, das oft auch die einzige Gangfüllmasse

bildet, erreicht 1-2 cm Dicke, an einer Stelle bis 10 cm anschwellend. Die Erzführung lässt sich nur zirka 5 m weit in Gangstrichen verfolgen."

Das Vorkommen war der lokalen Bevölkerung schon seit längerer Zeit bekannt, wurde aber erst vor gut 100 Jahren auf seine Abbauwürdigkeit untersucht (Grossi 2001): „*Bedeutende, bereits 1700 entdeckte Galenitflöze findet man in der Hochebene des Corandoni zwischen Val Piora und Val Cadlimo auf 2550 m Höhe. 1816 wurde Antonio Giosuè aus Quinto die Schürfung der „Bleiminen mit Spuren von Silber“ gewährt. Ein halbes Jahrhundert danach erfuhr man von zwei Galenitflözen „in Überfülle“. Am 2. Dezember 1864 entdeckte Giuseppe Patocchi aus Peccia eine Blei- und Silbermine auf der Alp Cadlimo. 1891 erhielten Giambone und Giannini aus Quinto das Schürfrecht. 1904 ging es, mittlerweile verfallen, auf L. Del Pietro aus Calpiogna über. Zwischen 1904 und 1906 wurden unter der Leitung des in New York lebenden Mailänder Ingenieurs Emilio Lodetti umfassende Forschungsarbeiten durchgeführt. 1905 gründete er die Gesellschaft "Gothard Mining & Engineering", deren Aufgabe es sein sollte, für den Materialtransport eine Seilbahn zwischen Ambri und dem Cadlimo-Gebiet zu bauen.*“ Gemäss Krige (1916) wurde das Vorkommen während zweier Sommer ausgebeutet und dabei etwa fünf Tonnen Erz gewonnen.

Weitere detaillierte Beschreibungen des Galenit-Vorkommens erfolgten durch Friedlaender (1930), welche sich aber grösstenteils auf die Arbeiten von Mariani (1905) und Preiswerk (1918) beziehen: „*Im Val Cadlimo, und zwar auf dem Hochplateau des Corandoni (2662) zwischen Val Piora und Val Cadlimo, setzen, etwa 400 m nördlich der Wasserscheide, zwischen Punkt 2662 und 2640, in etwa 2550 m Höhe ü.M., mehrere Quarz-Bleiglanzgänge im Orthogneis auf. [...] Der Orthogneis streicht N 80° W und fällt 45° nach NNE ein. Er weist zahlreich N 20° W streichende und 75° E fallende Klüfte auf. Die bedeutenderen dieser Klüfte sind oft mit Gangmasse, meist Quarz, gefüllt. In drei von diesen Klüften tritt Bleiglanz auf, und zwar entweder in Begleitung von Quarz oder aber der Bleiglanz bildet allein die Kluftausfüllung. Auf diesen drei Gängen sind Schürfungen ausgeführt worden. Der westlichste der Gänge ist der reichste. Das Bleierz ist durchschnittlich 2 cm mächtig und lässt sich an der Oberfläche etwa 5 m weit verfolgen. Etwa 2 m unter der Oberfläche hat die Schürfung eine linsenförmige Anschwellung blossgelegt, die Bleiglanzlage erreicht dort eine Mächtigkeit von etwa 10 cm. Der Erzgehalt des mittleren der drei Gänge ist spärlich. Der östliche Gang weist nur ganz geringe Spuren von Erz auf. Der Bleiglanz hat einen schwachen Silbergehalt. Zinkblende wird [...] nicht erwähnt.*“ Im Gegensatz dazu steht die Aussage von Zweifel (1954), dass die mittlere Schürfung die erreichste und die weiter östlich und weiter westlich gelegene viel ärmer an Bleiglanz war.

Neben silberhaltigem Bleiglanz tritt auf dem Piatto della Miniera Biotit-Apatitschiefer auf, welcher eines der grössten Phosphatvorkommen der Schweiz darstellt (Zweifel 1954). Das Phosphatlager (mit einem Gehalt von 9%) erstreckt sich über ca. 1 km und weist eine durchschnittliche Mächtigkeit von 3.5 m auf

(Abb. 2). Die leicht abbaubaren Vorräte an Biotit-Apatitschiefer wurden auf 150'000 bis 200'000 t geschätzt, mit einem Vorrat an Phosphat von ca. 20'000 t (Zweifel 1954). In den Kriegsjahren 1944 und 1945 erfolgte durch das „Bureau für Bergbau“ eine Überprüfung auf dessen Abbauwürdigkeit.

Mikroorganismen-Metall Interaktionen

Generell wird angenommen, dass ein grosser Teil (>90%) von Mikroorganismen in der Lithosphäre an feste Phasen gebunden ist (Brandl 2002). Diese partikelgebundenen Populationen sind verantwortlich für die biologischen Transformationen des mineralischen anorganischen Materials (z.B. Auflösung von Gesteinen, Freisetzung von Elementen). Für die Mobilisierung von Elementen aus Mineralien können drei hauptsächliche Prozesse verantwortlich sein (Brandl & Faramarzi 2006):

(1) *Redoxolyse*. Metalle in Festphasen können durch Redoxprozesse oxidiert oder reduziert werden. Die Löslichkeit des Metalls wird dabei je nach Typ und Oxidationszustand verändert. Durch die Transformation können Mikroorganismen Energie für ihren Metabolismus gewinnen (z.B. Oxidation von Eisen von Fe^{2+} zu Fe^{3+} ; Verwendung von Eisen (Fe^{3+}) als terminaler Elektronenakzeptor und dadurch Reduktion zu Fe^{2+}).

(2) *Acidolyse*. Dieser Prozess wird auch als protonen-induzierte Metallauflösung bezeichnet. Die mikrobielle Ausscheidung von Protonen beeinflusst die Löslichkeit von festen Mineralphasen. Protonen werden an der Oberfläche gebunden und können einerseits kritische Bindungen schwächen und andererseits Metalle ersetzen, die dann als Ionen von der Oberfläche freigesetzt werden.

(3) *Complexolyse*. Dieser Prozess wird auch als liganden-induzierte Metallauflösung bezeichnet. Mikroorganismen sind in der Lage, Komplex- oder Chelatbildner auszuscheiden. Diese binden an die festen Oberflächen, polarisieren kritische Bindungen und erleichtern das Ablösen von Metall-Ionen. Bi- oder multi-dentate Verbindungen wie Oxalat oder Citrat sind besonders effizient. Ebenso können Metalle durch das Ausscheiden von Blausäure leicht aus Festphasen mobilisiert werden (Faramarzi & Brandl 2006).

Neben sulfidischen Mineralien, wie sie als Ag-haltiger Galenit auf dem Piatto della Miniera vorkommen, sind Mikroorganismen auch fähig, Apatit durch die Ausscheidung von Essig-, Oxal- oder Gluconsäure (verbunden mit einer Erniedrigung des pH Werts) aufzulösen und Phosphat für den Aufbau von DNA oder ATP zugänglich zu machen (Welch 2002, Kang et al. 2002). Es ist deshalb sehr wahrscheinlich, in Gesteins- oder Bodenproben vom Piatto della Miniera mineral-auflösende Bakterien oder Pilze (z.B. *Acidithiobacillus*, *Aspergillus*) zu finden. Pflanzen können dabei ebenso von der erhöhten Phosphatverfügbarkeit für ihr Wachstum profitieren.

Literatur

- Brandl H.** (2002) Metal-microbe-interactions and their biotechnological applications for mineral waste treatment. Recent Research Developments in Microbiology 6:571-584.
- Brandl H., Faramarzi M.A.** (2006) Applying microbe-metal-interactions for the biotechnological treatment of mineral waste. China Particuology 4(2):93-97.
- Friedlaender C.** (1930) Erzvorkommnis des Bündner Oberlandes und ihre Begleitgesteine. Beiträge zur Geologie der Schweiz. Geotechnische Serie 16.
- Faramarzi M.A., Brandl H.** (2006) Formation of water-soluble metal cyanide complexes from solid minerals by *Pseudomonas plecoglossicida*. FEMS Microbiology Letters 259:47-52.
- Grossi P.** (2001) Bergsee der italienischen Schweiz: Zwischen Piora und Cadlimo. Werbematerial der Banco del Gottardo.
- Mariani E.** (1905) Sul giacimento di galena argentinifera dell'altopiano di Cadlimo. Giornale di Geologica Pratica 3(1):94-98.
- Kang S.C., Ha C.G., Lee T.G., Maheshwari D.K.** (2002) Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus, *Fomitopsis* sp. PS 102. Current Science 82:439-442.
- Krige L.J.** (1916) Petrographische Untersuchungen im Val Piora und Umgebung. Eclogae Geologicae Helveticae 14:518-657.
- Kropf R., Leupin O.** (2000) Mineralogische und strukturgeologische Untersuchungen in der Trias der Piora-Zone. Diplomarbeit, Geologisches und Mineralogisch-Petrographisches Institut der Universität Bern.
- Preiswerk H.** (1918) Geologische Beschreibung der Leontinischen Alpen. Beiträge zur Geologie der Schweiz 26.
- Welch S.A., Taunton E.A., Banfield J.F.** (2002) Effect of microorganisms and microbial metabolites on apatite dissolution. Geomicrobiology Journal 19:343-367.
- Zweifel H., de Quervain F.** (1954) Der Biotit-Apatitschiefer des P. Corandoni (Val Cadlimo, Tessin). Beiträge zur Geologie der Schweiz. Geotechnische Serie 32.

X. Biodiversität der Benthischen Diatomeengemeinschaft im Abfluss des Cadagnosees

Lirika Kupe, Ferdinand Schanz, Reinhard Bachofen

Abkürzungen: SI: Saprobiic Index, Saprobiien-Index; DI-CH: Swiss Trophic Diatom Index, Schweizerischer Diatomeen-Index der Trophie.

1. Einleitung

Diatomeen sind geeignete Organismen, um den Zustand eines Gewässers zu beurteilen (Biomonitoring). Sie kommen in stehenden und fliessenden Gewässern in der euphotischen Zone vor, zählen zu den artenreichsten Primärproduzenten und leben unter den verschiedensten Umweltbedingungen [John, 2003; Round, 1991]. Die meisten Arten verfügen über einen kurzen Lebenszyklus, so dass Diatomeen-Populationen rasch auf Umweltveränderungen reagieren können. Die aus Silikaten bestehenden Schalen sind leicht zu sammeln, zu konservieren sowie für die mikroskopischen Untersuchungen aufzubereiten. Eine leicht zugängliche umfangreiche Literatur erlaubt eine rasche und zuverlässige taxonomische Bestimmung [Cox, 1991; Prygiel et al., 2002; Rott et al., 1999; Rott et al., 2003].

Während ein physikalisch-chemisches Monitoring nur den momentanen Zustand eines Gewässers erfasst, geben die Untersuchungen von Lebensgemeinschaften eine Information über die Auswirkungen von kurz- und langwährenden Einflüssen, wie Schwankungen der Temperatur, des Nährstoffgehaltes, oder zu den Auswirkungen von organischen Verschmutzungen [John, 2003].

Untersuchungen haben gezeigt, dass die Diatomeen-Arten unterschiedliche Wachstumsansprüche haben müssen. Es darf deshalb erwartet werden, dass die Zusammensetzung der Diatomeen-Gemeinschaft (Arten und deren Anteile an der gesamten Diatomeen-Biomasse) einen Hinweis auf die Wachstumsbedingungen in einem Gewässer geben. Je nachdem, welche Charakterisierung eines Gewässers angestrebt wurde (Saprobie, Trophie), definierte man einen speziellen Index, z.B. den Saprobiien-Index [Rott et al., 1997], den Trophie-Diatomeen-Index [Prygiel et al., 2002; Rott et al., 1999, Rott et al., 2003] oder für die Schweiz den Schweizerischen Diatomeen-Index der Trophie [Buwal, 2007].

2. Material und Methoden

Probenahme

Die Murinascia di Cadagno, ein Seitenarm der Murinascia, ist der Abfluss der Cadagnosees. Die Abflussrate bewegt sich im Jahreslauf im Bereich zwischen 0.5 und 20 Kubikmetern pro Minute. Die Diatomeen wurden im Sommer 2005 wenige Meter unterhalb des Ausflusses mit einer Zahnbürste von der

Oberfläche von Steinen abgekratzt und das Material in 4% Formaldehyd fixiert [Prygiel et al., 2002; Buwal, 2007; Kelly et al., 1998].

Aufbereitung der Proben und Zählungen

Die Reinigung der Diatomeenschalen vom organischen Material und die Herstellung der Präparate erfolgte nach Krammer und Lange-Bertalot [1986-2001] sowie die Bestimmung der Arten mit Hilfe von Standardliteratur [Krammer und Lange-Bertalot, 1986-2001; Pascher, 1976]. Etwa 500 Schalen pro Präparat wurden nach Arten ausgezählt (100x Oelimmersion).

Auswertung

Aus den quantitativen Daten und den Indikatorwerten jeder Art wurden Shannon Index, H' [Shannon und Weaver, 1949], Saprobenindex, SI [Rott et al., 1997], und der Schweizerische Diatomeenindex der Trophie, DI-CH [Buwal, 2007], errechnet. Letzterer ist im Internet verfügbar unter
[\(http://www.modul-stufen-konzept.ch/download/diatomeen_d.pdf\)](http://www.modul-stufen-konzept.ch/download/diatomeen_d.pdf).

3. Resultate

Verschiedene Algen bedeckten die grossen und kleinen Steine im Bett der Murinascia di Cadagno und bilden gemischte, meist braune Biofilme. Am häufigsten war die zentrische Art *Cyclotella cyclopuncta* mit einem Anteil von 82.8 % an der Gesamtmenge der Schalen aller Diatomeen-Arten; von den pennalen Diatomeen waren mit Ausnahme von *Achnanthes minutissima* (2.7%) alle übrigen Arten mit weniger als 1.2 % vertreten (Tab. 1). Die physikalisch-chemischen Parameter entsprachen denjenigen des Oberflächenwassers des Sees und waren verschiedentlich beschrieben worden [Del Don et al., 2001; www.cadagno.ch]. *Cyclotella cyclopuncta* hat im DI-CH einen Indikationswert von 2.0 und eine Gewichtung von 1 und bestimmte mit seiner hohen Abundanz damit massgeblich den DI-CH Index. *Achnanthes minutissima* Kützing als zweithäufigste Spezies wird als tolerante Art beschrieben [15], mit einem Indikationswert im DI-CH von 3.0 und einer Gewichtung von 0.5. Die übrigen Arten mit nur geringer Häufigkeit hatten wenig Einfluss auf den DI-CH von 2.07. Der Shannon Index, H', zeigte mit 1.37 eine geringe Biodiversität, was bei der Massenentwicklung von *Cyclotella cyclopuncta* nicht erstaunt. Der Saproben-Index, SI, ist mit 1.59 ebenfalls niedrig und weist auf oligo- bis β-mesosaprobe Bedingungen hin. Beide Werte, der DI-CH und der SI, bestätigen, dass das abfliessende Seewasser kaum verschmutzt war. Mit einer Belastung durch die Alpwirtschaft muss zwar gerechnet werden; sie schien sich aber nicht auf die Diatomeen-Gemeinschaft des Abflusses ausgewirkt zu haben. Ein Einfluss von nährstoffreichem Tiefenwasser aus dem Monimolimnion kann vernachlässigt werden, da sich auch bei starker Windeinwirkung kaum Wasser aus dieser Schicht mit dem Oberflächenwasser im Abfluss vermischen dürfte.

Centrales	Anzahl	Häufigkeit p%
Cyclotella radiosa (GRUNOW) LEMMERMANN	4	0.8
Cyclotella cyclopuncta HAKANSSON et CARTER	424	82.8
Pennales		
Achnanthes minutissima KÜTZING	14	2.7
Cocconeis placentula EHRENBERG	6	1.2
Cymbella affinis KÜTZING	2	0.4
Cymbella microcephala (Artengruppe)sensu KRAMMER et LANGE-BERTAL	8	1.6
Cymbella minuta HILSE	8	1.6
Denticula tenuis KÜTZING	6	1.2
Diatoma ehrenbergii KÜTZING	6	1.2
Diploneis elliptica (KÜTZING) CLEVE	2	0.4
Fragilaria capucina var.gracilis (OESTRUP)HUSTEDT	4	0.8
Fragilaria capucina var.vauscheria(KÜTZING) LANGE-BERTALOT	4	0.8
Fragilaria construens f. binodis (EHRENBERG) HUSTED	2	0.4
Fragilaria ulna(NITZSCH) LANGE-BERTALOT	2	0.4
Fragilaria leptostauron var. leptostauron (EHRENBERG) HUSTED	2	0.4
Navicula capitatoradiata GERMAIN	2	0.4
Navicula cryptotenella LANGE-BERTALOT	4	0.8
Navicula radiosa KÜTZING	2	0.4
Nitzschia dissipata (KÜTZING) GRUNOW	2	0.4
Nitzschia fonticola GRUNOW	4	0.8
Nitzschia recta HANTSCH	2	0.4
Synedra acus var.angustissima LANGE-BERTALOT	2	0.4
Total Anzahl Schalen (Kolonne,links) und Arten (Kolonne, rechts):	512	22
Shannon Index, H':		1.37
Diatom Trophic Index, DI-CH:		2.07
Saprobic Index, SI:		1.59

Tab. 1. Artenliste der Diatomeen im Abfluss des Cadagnosees, für jede Art die Anzahl der Schalen sowie der prozentual Anteil an der gesamten Diatomeen-Gemeinschaft und für die Gemeinschaft die berechneten Shannon Index, H', Diatom Trophic Index, DI-CH, und Saprobic Index, SI (Juli 2005).

4. Diskussion

Ein einzelner biologischer Index erlaubt nicht, den Zustand eines Fliessgewässers vollständig zu beurteilen:

Mit dem Shannon-Index können Organismengemeinschaften unabhängig von Gewässerverunreinigungen verglichen werden.

Der Saproben-Index, SI [Rott et al., 1997], und Trophie Indizes [Buwal, 2007;

Schmedtje et al., 1998] wie der Schweizerische Diatomeen-Index der Trophie beschreiben definitionsgemäss zwei verschiedene biologische Prozesse, den Abbau von organischem Material, respektive die Produktion von Biomasse durch die Photosynthese. In aquatischen Systemen mit geringer organischer Belastung, wie der Abfluss eines alpinen Sees, ist ein Trophie-Index zur Klassifizierung geeignet, da die für das Pflanzenwachstum notwendigen Nährstoffe, Stickstoff- und Schwefelverbindungen, im oxidierten Zustand vorliegen und Phosphor produktionsbegrenzender Faktor ist. Der Saproben-Index, SI, beurteilt Fliessgewässer nach deren Belastung durch gelöstes organisches Material von unbehandeltem Abwasser. Da der Abfluss des Cadagnosees nicht durch Abwässer belastet ist, dürfte der Saproben-Index für die biologische Charakterisierung wenig geeignet sein.

Zusammenfassung

Die Biodiversität der benthischen Diatomeengemeinschaft wurde im Juli 2005 bestimmt, um den ökologischen Zustand des Abflusses des im Pioratal gelegenen Cadagnosees zu erfassen. Gesamthaft wurden 22 Arten von Diatomeen gefunden und deren relative Häufigkeiten bestimmt. Der Shannon Biodiversitätsindex (H') und der Saprobenindex (SI) wurden berechnet sowie der in den letzten Jahren entwickelte Schweizerische Diatomeenindex der Trophie (DI-CH). Eine Art, *Cyclotella cyclopuncta*, war mit fast 83% dominant, weitere Arten zählten zu den Gattungen *Achnanthes*, *Cocconeis*, *Cymbella*, *Denticula*, *Diatoma*, *Fragilaria*, *Navicula*, *Nitzschia* und *Synedra*. Wegen der Dominanz von *Cyclotella cyclopuncta* war der Shannon Index niedrig. Sowohl der Saproben-Index wie auch der Schweizerische Diatomeen-Index der Trophie ergaben niedrige Werte, typisch für unverschmutzte und schwach belastete Gewässer.

Verdankungen

Wir danken dem DEZA, Bern, für die Finanzierung des Aufenthaltes von L. K. in der Schweiz und Dr. J. Hürlmann, AquaPlus, Zug, für die Hilfe bei der Identifizierung der Diatomeen.

Literatur

- Buwal** (2007) Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fliessgewässer: Kieselalgen Stufe F (flächendeckend), http://www.modul-stufenkonzept.ch/download/diatomeen_d.pdf
- Cox E. J.** (1991) What is the basis for using diatoms as monitors of river quality? Proceedings of an International Symposium (Eds: B. A. Whitton, E. Rott, G. Friedrich), Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf, 33-40.
- Del Don C., Hanselmann K. W., Peduzzi R., Bachofen R.** (2001) The meromictic alpine Lake Cadagno: Orographical and biogeochemical description. Aquat. Sci. 63, 70-90.

- Hofmann G.** (1994) Aufwuchs-Diatomeen in Seen und Eignung als Indikatoren der Trophie, *Bibliotheca Diatomologica* 30.
- John J.** (2003) Bioassessment on health of aquatic systems by the use of diatoms, in *Modern Trends in Applied Aquatic Ecology* (Eds: R. S. Ambasht, N. K. Ambasht), Kluwer Academic Publications, New York, 1-20.
- Kelly M. G., Cazaubon A., Coring E., Dell`Uomo A., Ector L.** (1998) Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessment in Europe, *J. Appl. Phycol.*, 10, 215-224.
- Krammer K., Lange-Bertalot H.** (1986-2001) Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bacillariophyceae. Teil: 2/1; 2/2; 2/3; 2/4; 2/5, Fischer, Stuttgart. Literaturverzeichnis unter www.cadago.ch
- Pascher A.** (1976) Süßwasserflora von Mitteleuropa, Heft 10, Jena 1930.
- Prygiel J., Carpentier P., Almeida S., Coste M. et al.** (2002) Determination of the biological Diatom Index (IBD NF T 90-354): results of an intercomparison exercise, *J. Appl. Phycol.*, 4, 27-39.
- Rott E., Hofmann G., Pall K., Pfister P., Pipp E.** (1997) Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 1: Saprobielle Indication. Bundesministerium f. Land- und Forstwirtschaft, Wien, 1-74
- Rott E., Pipp E., Pfister D., Van Dam H., Ortler K., Binder N., Pall K.** (1999) Indikationslisten für Aufwuchsalgen in Österreichischen Fließgewässern, Teil 2: Trophieindikation. Bundesministerium f. Land- und Forstwirtschaft, Zahl 41.034/08-IVA 1/97, Wien, 1-248.
- Rott E., Pipp E., Pfister P.** (2003) Diatom methods developed for river quality assessment in Austria and a cross-check against numerical trophic indication methods used in Europe, *Algological Studies*, 110, 91-115.
- Round F. E.** (1991) Use of diatoms for monitoring rivers, Proceedings of an International Symposium (Eds: B. A. Whitton, E. Rott, G. Friedrich), Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf, 25-32.
- Schmedtje U., Bauer A., Gutowski A., Hofmann G., Leukart P., Melzer A., Mollenhauer D., Schneider S., Tremp H.** (1998), Trophiekartierung von aufwuchs- und makrophytendominierten Fließgewässern, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München. Informationsberichte, Heft 4/99.
- Shannon C. E., Weaver W.** (1949), *The mathematical theory of communication*, Univ. Illinois Press, Urbana.

XI. Liste et adresses des intervenants

Raffaele Peduzzi Professeur, Université de Genève Président Fondation CBA, Piora Institut Cantonal de Microbiologie Via Mirasole 22A 6500 Bellinzona	Christophe Dupraz Assistant Professeur Center for Integrative Geosciences University of Connecticut 354 Mansfield Road Storrs, CT 06269-2045, USA
Renata Boucher-Rodoni Chargé de Recherche au CNRS BOME-MNHN 55, rue Buffon 75005 Paris	Dittmar Hahn Professeur, Texas State University Department of Biology, 601 University Drive, San Marcos, Texas 78666, USA
Mauro Tonolla Chargé de cours Université de Genève Institut Cantonal de Microbiologie Via Mirasole 22A 6500 Bellinzona	Lirika Kupe Collab. scientifique Institut für Pflanzenbiologie Limnologische Station Seestrasse 187 8802 Kilchberg
Reinhard Bachofen Professeur, Universität Zürich Institut für Pflanzenbiologie Zollikerstrasse 107 8008 Zürich	Babur S. Mirza Collab. scientifique Department of Biology, Texas State University, 601 University Drive, San Marcos, Texas 78666, USA
Helmut Brandl Professeur, Universität Zürich Institut für Umweltwissenschaften Winterthurstrasse 8057 Zürich	Sandro Peduzzi Collaborateur scientifique Institut Cantonal de Microbiologie Via Mirasole 22A 6500 Bellinzona
Simona Casati Collaboratrice scientifique Institut Cantonal de Microbiologie Via Mirasole 22A 6500 Bellinzona	Nicoletta Riccardi Collaboratrice scientifique Consiglio Nazionale delle Ricerche Istituto Italiano di Idrobiologia Largo Vittorio Tonolli, 50-52 28922 Verbania Pallanza - I
Antonella Demarta Collaboratrice scientifique Institut Cantonal de Microbiologie Via Mirasole 22A 6500 Bellinzona	

Ferdinand Schanz
Professeur, Universität Zürich
Institut für Pflanzenbiologie
Limonlogische Station
Seestrasse 187
8802 Kilchberg

Xavier Alexis Walter
Doctorant
Laboratoire de Microbiologie
Université de Neuchâtel
Emile Argand 11
2009 Neuchâtel

Allana Welsh
Collaboratrice scientifique
Department of Biology,
Texas State University,
601 University Drive, San Marcos,
Texas 78666, USA

Barbara Wicht
Collaboratrice scientifique
Institut Cantonale de Microbiologie
Via Mirasole 22A
6500 Bellinzona

Jakob Zopfi
Collaborateur scientifique
Laboratoire de Microbiologie
Université de Neuchâtel
Emile Argand 11
2009 Neuchâtel

