

MAREK K. ZDANOWSKI¹ i JAN H. VOSJAN²

¹ Zakład Biologii Antarktyki Polskiej Akademii Nauk

Ustrzycka 10, 01-141 Warsaw, Poland

e-mail: M.Zdanowski@dab.waw.pl

² Department of Biological Oceanography,

Netherlands Institute for Sea Research

P.O. Box 59, 1790 AB Den Burg, Texel, The Netherlands

MORSKIE BAKTERIE ANTARKTYCZNE A PROMIENIOWANIE UV-B

HISTORIA BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ANTARKTYCE

Do lat sześćdziesiątych bieżącego wieku badania mikrobiologiczne w Antarktyce polegały głównie na pomiarach liczebności heterotroficznych bakterii rosnących na zestalonych pożywkach, bez wnikania w zimnolubną naturę tych bakterii.

Pierwsze wyniki badań mikrobiologicznych w Antarktyce, prowadzonych metodą płytkową, pochodzą z trzech ekspedycji: niemieckiej, szwedzkiej i szkockiej w latach 1901–1904. W dwóch pierwszych wyprawach GAZERT (1912) i EKELÖF (1908) stwierdzili, że liczebność bakterii w morzu waha się od 0 do 30 na 1 ml. W trzeciej wyprawie PIRIE (1912) wykrył średnio 163 bakterie na 1 ml wód powierzchniowych, oraz 1–2 bakterie na 1 ml wód poniżej 3700 m. Podczas francuskiej wyprawy antarktycznej (1903–1905) TSIKLINSKY (1908) jako pierwszy w Antarktyce, wykrył obecność bakterii psychrofilnych (zimnolubnych) w odchodach ryb, co ignorowano aż do lat sześćdziesiątych. Badania bakteriologiczne, prowadzone podczas australijskiej wyprawy (1911–1914) przez MCLEAN (1918) i podczas amerykańskiej wyprawy w latach 1933–1934 przez DARLINGA i SIPLEA (1941), wykazały obecność bakterii także w innych siedliskach Antarktyki takich, jak powietrze, lód, gleba, powierzchnia roślin oraz przewód pokarmowy zwierząt.

Systematyczne badania zawartości bakterii w Antarktyce zapoczątkowane w latach 1956–1957 podczas Międzynarodowego Roku Geofizycznego (oparte również o metody płytkowe), miały na celu między innymi wyjaśnienie przyczyn występowania „bakteriologicznie sterylnych” zwierząt (SIEBURTH 1965), oraz występo-

wania wód całkowicie sterylnych, bądź wód o niskiej liczbie bakterii (LEBEDEVA 1958). Postulowano uznanie liczby bakterii jako bioindykatora łatwo asymilowalnej materii organicznej wód oceanicznych (KRIS 1963). Niestety nie brano wówczas pod uwagę zimnolubnej natury bakterii występujących w Antarktyce, hodując ich kultury w temperaturze 23–28°C. Wykrycie przez SIEBURTHA (1960) antybiotycznego działania kwasu akrylowego, kumulującego się w masowo pojawiających się komórkach nanoplanktonowego glonu *Phaeocystis pouchetii*, stanowiło podstawę do przypuszczenia, że kwas akrylowy ogranicza liczebność populacji bakterii.

Od roku 1964, gdy MORITA i HAIGHT (1964) oraz SIEBURTH (1964) donieśli o występowaniu psychrofilnych bakterii obecnych w różnych morskich środowiskach, zwrócono wreszcie uwagę na ich zimnolubny lub zimnotolerancyjny charakter. Obecnie psychrofile definiuje się jako organizmy mające optymalną temperaturę wzrostu nie przekraczającą 15°C, maksymalną nie przekraczającą 20°C i minimalną nie przekraczającą 0°C (MORITA 1975). Bakterie zimnotolerancyjne (psychrotrofy) definiuje się jako organizmy zdolne do wzrostu w niskich temperaturach, ale zachodzące skalą tolerancji temperaturowej na obie sąsiadujące termiczne grupy: psychro- i mezofili (EDDY 1960).

W naturalnych, zimnych ekosystemach psychrotrofy i psychrofile występują w różnych proporcjach, przy czym w Antarktyce liczba psychrofilów jest wyższa niż w wodach arktycznych. KANEKO i współaut. (1977) stwierdzili, że 25% z 200 izolowanych bakterii z Morza Beauforta stanowiły psychrofile, podczas gdy WIEBE

i HENDRICKS (1974) oraz MORITA (1975) stwierdzali ponad 50% psychrofilii wśród bakterii izolowanych z wód antarktycznych. Jedną z hipotez dotyczących ewolucji bakterii głosi, że termofilne bakterie dały początek długotrwałej ewolucji poprzez mezofilne do psychrofilnych bakterii (BROCK 1967). Nie tylko strefa polarna, która obejmuje 14% powierzchni kuli ziemskiej, ale ponad 90% mas wód wszechoceanu ma temperaturę niższą od 5°C (MORITA 1976).

Największy rozwój badań bakteriologicznych w Antarktyce nastąpił w ostatnim dwudziestolecu. Wykazano (AUSTIN 1988), że bakte-

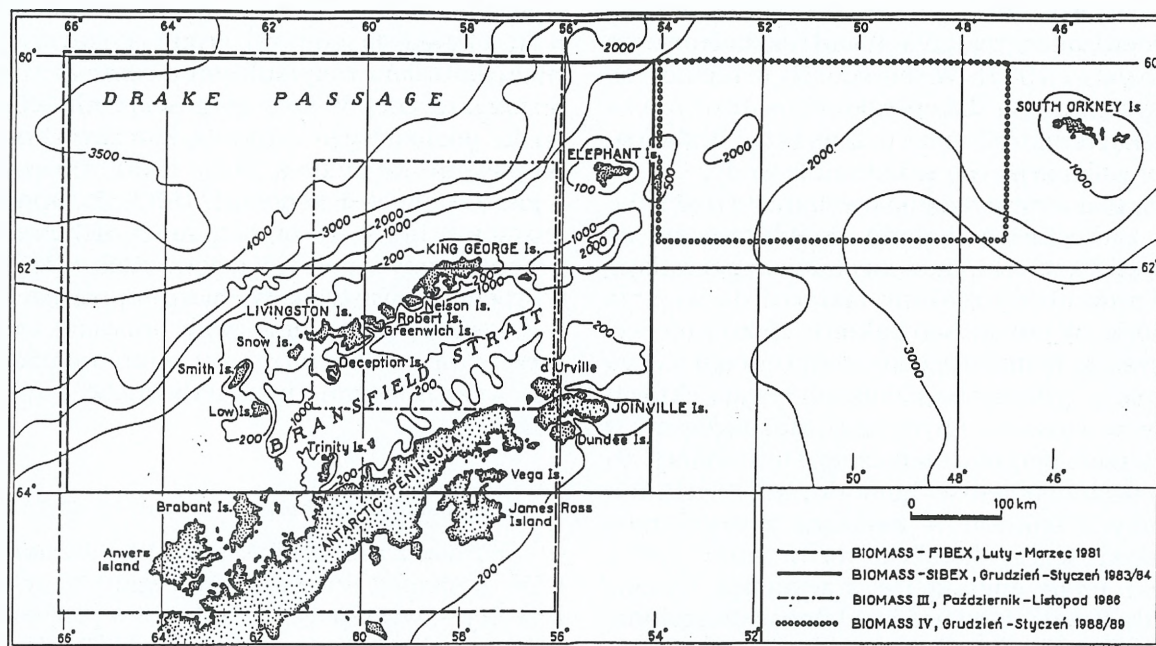
rie są jednym z podstawowych elementów w oceanicznej sieci pokarmowej, przenoszących energię zawartą w rozpuszczonej materii organicznej DOM (Dissolved Organic Matter) do wyższych poziomów troficznych, oraz transformujących zawieszynową materię organiczną POM (Particulate Organic Matter) do form rozpuszczonych i detritusu. Dziewięćdziesiąt procent pochodzącej z oddychania produkcji CO₂ w biosferze, jest wynikiem aktywności mikroorganizmów (STANIER i współaut. 1958), z czego 60% przypada na oceany.

BAKTERIE W OCEANIE POŁUDNIOWYM

BAKTERIOPLANKTON

Bakterie występujące w stanie wolnym na wszystkich głębokościach wód wszechoceanu określa się mianem bakterioplanktonu. Zalicza się go w większości do gram-ujemnej frakcji pikoplanktonu o wymiarach komórek 0.2–2.0 µm. Ponieważ nie rośnie on na zestalonych, konwencjonalnych pożywkach, jego liczebność określa się w mikroskopie epifluorescencyjnym, najczęściej po zabarwieniu AO (Acridine Orange) (ZIMMERMANN i MEYER-REIL 1974) lub DAPI (46-diamidino-2-phenylindole) (PORTER i FEIG 1980). W pierwszej metodzie, stosowanej, również przez nas oranż akrydynowy wiąże się specyficznie z DNA i RNA, dając w świetle o długości fali 436 lub 490 nm zieloną fluorescencję kompleksu DNA-AO i czerwoną RNA-AO. Metoda ta pozwala jednocześnie odróżnić dobrze odżywną populację bakterii od głodującej (ZDANOWSKI 1988b). Bakterioplankton odżywia się rozpuszczoną materią organiczną w niskiej, ponadśladowej koncentracji, różnej dla różnych substratów. Poniżej tej koncentracji komórka bakterii, „konserwując energię”, nie wykazuje aktywnego transportu i produkcji enzymów (SIEBURTH 1979), przechodzi bowiem w stan uśpienia. Badania przy zastosowaniu mikroskopii epifluorescencyjnej wykazały, że liczebność bakterioplanktonu w wodach antarktycznych jest porównywalna z liczbą bakterii zarówno w zimnych wodach arktycznych (KANEKO i współaut. 1978) jak i tropikalnych (SOROKIN i współaut. 1977). Liczba bakterii najczęściej waha się od 10⁴ do 10⁶ komórek na 1ml w zależności od siedliska, pory roku i innych czynników środowiska, jest także zróżnicowana w przybrzeżnych i pelagicznych rejonach Antarktyki (ZDANOWSKI w druku). Badając bakterioplankton w wodach powierzchniowych wschodniego sekto-

ra Południowego Pacyfiku HANSON i współaut. (1983) stwierdzali obniżenie liczebności bakterii z $7,2 \times 10^5$ na 1ml w strefie Subtropikalnej Konwergencji do $1,3 \times 10^5$ na 1ml w strefie Subantarktycznego Frontu i ponowny wzrost do $3,5 \times 10^5$ na 1ml w strefie Frontu Polarnego. Wieloletnie badania mikrobiologiczne (1978–1988) w Antarktyce (ZDANOWSKI i DONACHIE 1993, ZDANOWSKI 1995), obejmujące wody otwarte i przybrzeżne Cieśniny Drakea i Bransfielda oraz Zatoki Admiralicji, a także wody w sąsiedztwie paku lodowego na Morzu Scotia (Ryc. 1) wykazały, że liczebność bakterii wahała się tu w większym zakresie niż w innych strefach geograficznych, a średnia z tych liczebności, uzyskana w skali lat i sezonów, była niższa niż w innych strefach geograficznych (Tabela 1). Największą ogólną liczebność bakterii (średnio $1,3 \times 10^5$ na 1ml) stwierdzano w warstwie powierzchniowej wody do głębokości 75 m, czyli w strefie masowego występowania także innych organizmów, przede wszystkim fitoplanktonu i skupień kryla (*Euphausia superba*). Liczebność bakterii w wodach morskich Antarktyki ulegała znacznym wahaniom sezonowym, przy czym najniższe wartości obserwowano wczesną wiosną antarktyczną (październik), a najwyższe późnym latem (luty–marzec) (ZDANOWSKI 1995). Chociaż bakterie antarktyczne są małe, gdyż objętość ich komórki waha się przeciętnie od 0,139 do 0,204 m³, to jednak ich ogólna biomasa jest porównywalna z ogólną biomasą innych organizmów żyjących w ekosystemie morskim Antarktyki (ZDANOWSKI, w druku). Na przykład w 1 km³ wód Zatoki Admiralicji stwierdzano następujące biomasy różnych grup organizmów: bakterii — 21 ton, kryla 4 — 26 ton, fitoplanktonu — 27 ton, wiciowców — 25 ton i orzeszków — 17 ton. Jeżeli wziąć pod uwagę krótki czas generacji bakterii (czas między podziałami), który w przypadku populacji bakterii



Ryc.1. Lokalizacja rejonów polskich badań w Antarktyce podczas czterech polskich wypraw antarktycznych (1981–1989, ZDANOWSKI 1995):

FIBEX (First International BIOMASS Experiment — Pierwszy Międzynarodowy BIOMASS Eksperyment); SIBEX (Second International BIOMASS Experiment — Drugi Międzynarodowy BIOMASS Eksperyment); BIOMASS (Biological Investigations of Marine Antarctic Systems and Stocks — Biologiczne Badania Systemów i Zasobów Antarktyki).

saprofitycznych może wynosić 17,5 godzin (ZDANOWSKI 1981), a w przypadku ogólnego bakterioplanktonu poniżej 40 godzin (ZDANOWSKI 1995), a także szybki czas rotacji, będący miernikiem rozkładu rozpuszczonych substancji organicznych przez bakterie, to nie dziwi fakt zwrócenia w ostatnim piętnastoleciu uwagi na niedocenianą przedtem kluczową rolę bakterii

Tabela 1. Ogólna liczba bakterii i liczba bakterii saprofitycznych w różnych środowiskach Morskiej Antarktyki.

Region/siedlisko	Ogólna liczba bakterii na 1 ml ¹	Liczba bakterii saprofitycznych na 1 ml ²
Strumień lodowcowy wpływający do Zatoki Admiralicji	2900–38000	10,5–256
Zatoka Admiralicji	3000–1870000	0,18–13380
Wody morskie otwarte	300–365000	0,08–49,7
Lód morski	3000–44000000	4,2–225
Żołądek kryla	450000000–1890000000*	1900000–533000000 ³

* liczba bakterii na 1 gram homogenatu żołądka kryla

⁽¹⁾ według ZIMERMANN i MEYER-REILA (1974) (metoda bezpośrednia w mikroskopie epifluorescencyjnym po zabarwieniu oranżem akrydynowym)

⁽²⁾ według ZDANOWSKIEGO (1995) (metoda płytkowa na pożywie agarowej)

⁽³⁾ według DONACHIEGO (1995)

w antarktycznych ekosystemach morskich. Według HODSONA i współaut. (1981) wolno żyjące bakterie są 50 do 100 razy bardziej aktywne niż duże organizmy.

BAKTERIE SAPROFITYCZNE

Epibakterie, zwane także bakteriami saprofitycznymi, w stanie wolnym są niewielką (od ułamka procenta do kilku procent) frakcją bakterioplanktonu. Większość epibakterii w wodach morskich Antarktyki stanowią gramujemne pałeczki lub ziarniaki, nie odróżniające się morfologicznie od siebie. Tworzą kolonie na pożywkach stałych, dzięki czemu mogą być izolowane, selektywnie identyfikowane, a ich fizjologia może być badana w czystych kulturach w oparciu o standardowe techniki (ZDANOWSKI i DONACHIE 1993). Epibakterie w stanie wolnym występują przejściowo, jako głodujące formy (starving transients), gdy jednak pojawia się w ich otoczeniu materia zawieszona, na przykład w postaci martwych organizmów, odchodów zwierząt, czy nawet żywych organizmów, bakterie kolonizują niezasiedlone powierzchnie w trzech etapach (SIEBURTH 1979): 1) odwracalnej adhezji pod wpływem sił van der Waalsa, 2) nieodwracalnej adhezji za pomocą specyficznych polimerowych wytworów bakteryjnych i 3) wzrostu populacji bakteryjnej aż do osiągnię-

cia wartości stałej, co w Antarktyce zostało potwierdzone w badaniach nad rozkładem kryła (ZDANOWSKI 1981). W ten sposób w niektórych ekosystemach liczba epibakterii osadzonych na cząstkach materii może przewyższyć liczbę bakterii wolnożyjących w kolumnie wody.

Epibakterie wykazują mechanizm rozkładający zawieszoną materię, znajdującą się na zewnątrz komórki, oraz mechanizm pozwalający wprowadzić rozłożony materiał do wnętrza komórki. W ten sposób bakterie efektywnie wykorzystują tę materię jako źródło energii. Główną rolę w tym mechanizmie odgrywają ektoenzymy, w większości hydrolazy, zlokalizowane w przestrzeni peryplazmatycznej, stanowiącej 20–40% ogólnej objętości komórki, lub — u gramujemnych bakterii — związane z zewnętrzną warstwą ściany komórkowej (CHRÓST 1991). Dzięki temu epibakterie przejawiają wysoką metaboliczną aktywność i zdolność do szybkiego rozkładu POM. Wśród tlenowych epibakterii, występujących w dobrze natlenionych wodach, niektóre mogą funkcjonować nawet w siedliskach pozbawionych tlenu, jakimi są pewne zespoły bentosowe, przewód pokarmowy zwierząt czy pozbawione tlenu masy wód (SIEBURTH 1979). To tłumaczy wszechobecność i wszechuczestnictwo epibakterii w transformacji materii w różnych siedliskach.

BAKTERIE W LODZIE MORSKIM

Niezwykle ważnym elementem funkcjonowania ekosystemu morskiego Antarktyki jest powstawanie i topnienie lodu morskiego. Wraz z obumieraniem fitoplanktonu i zanikiem produkcji pierwotnej w strefie pelagicznej mórz antarktycznych w okresie zimowym, zanika podstawowy dla przemian metabolicznych bakterioplanktonu substrat, jakim jest fotosyntetyzowana materia organiczna, uwalniana przyżyciowo przez fitoplankton do otoczenia. Zimą w miejsce fitoplanktonu formuje się nowy zespół organizmów lodu morskiego, z całym kompleksem wzajemnych oddziaływań pomiędzy samożywnymi i cudzożywnymi organizmami. Zespół ten tworzą głównie okrzemki, pierwotniaki i bakterie, oraz odżywiające się nimi organizmy podlodowe (BUNT i WOOD 1963, RAKUSA-SUSZCZEWSKI 1972). W ostatnich latach zainteresowanie tym zespołem w ekosystemie Antarktyki znacznie wzrosło (LIGOWSKI i współaut. 1992 i art. w tym numerze KOSMOSU, PALMISANO i GARRISON 1993, ZDANOWSKI i DONACHIE 1993). KOTTMEIER i SULLIVAN (1990) stwierdzili wiosną i jesienią w lodzie morskim wyższą niż w powierzchniowych wodach Morza Weddell-Scotia liczbę bakterii (10 i 5 razy) oraz

chlorofilu *a* (8 i 54 razy). Zespół organizmów lodu morskiego stanowi źródło pokarmu dla wielu gatunków zooplanktonu i bentosu w strefie przybrzeżnej. W szczególności produkcja zespołu podlodowego odgrywa kluczową rolę w odżywianiu kryła zimą (DALY 1990). Uważa się także (GARRISON i współaut. 1983, ZDANOWSKI i DONACHIE 1993), że przynajmniej niektóre mikroorganizmy żyjące w lodzie są zdolne do życia w wodach otwartych. W miarę topnienia lodu wyjałowione przez zimę wody morskie są zaszczipiane ronionymi z lodu mikroorganizmami, wykazującymi dużą aktywność metaboliczną.

BAKTERIE W PRZEWODZIE POKARMOWYM KRYŁA

Jednym z przykładów powiązań świata mikroorganizmów ze światem organizmów wyższych jest występowanie bakterii w przewodzie pokarmowym kryła antarktycznego (*Euphausia superba*). Według badań RAKUSA-SUSZCZEWSKIEGO i ZDANOWSKIEGO 1989, ZDANOWSKIEGO 1995, DONACHIEGO 1995) ogólna liczba bakterii w żołądku kryła, w przeliczeniu na jednostkę objętości, była od 285 tys. do 582 tys. razy wyższa niż liczba bakterii w morskich wodach otwartych i 3,5 tys. razy wyższa niż średnia liczba w lodzie morskim. Jeszcze większy wzrost liczby bakterii w żołądku kryła w stosunku do liczby bakterii w otaczającej wodzie morskiej stwierdzono w przypadku bakterii saprofitycznych (Tabela 1). Ogólna biomasa bakterii stanowiła od 0,007 do 0,02 % biomasy żołądka i jego treści. Nie wydaje się zatem możliwe, aby bakterie mogły spełniać rolę pokarmu kryła. Niemniej rola mikroorganizmów zawartych w przewodzie pokarmowym zwierząt jest równie ważna, jak rola mikroorganizmów w otwartych siedliskach morskich.

SIEBURTH (1979) dzieli bakterie przewodu pokarmowego w zależności od typu zwierzęcia, na dwie grupy. Pierwsza wchodzi w skład pokarmu zwierzęcia, a druga, tubylcza (autochtoniczna) mikroflora, często jest ściśle związana ze specyficznymi obszarami przewodu pokarmowego i przejawia tu wzmoczoną aktywność metaboliczną. Niewiele jest danych na temat przyżyciowych związków kryła i bakterii. DONACHIE i współaut. (1995) donieśli o występowaniu zróżnicowanej mikroflory bakteryjnej nie tylko w żołądku, ale także w trzustkowatrobie kryła norweskiego (*Meganyctiphanes norvegica*), a ponadto o występowaniu specyficznych enzymów bakteryjnych, rozkładających białko i chitynę zarówno u *M. norvegica* jak i u *E. superba*. Potwierdza to tezę o potencjalnej trawiennej roli bakterii, współdziałających z enzymami kryła

przy rozkładzie wysoce zróżnicowanego i opornego na rozkład pokarmu w żołądku *Euphausia superba* (DONACHIE i ZDANOWSKI 1998). Po śmierci kryl ulega szybkiemu rozkładowi. W pierwszych godzinach rozkład zachodzi autoli-

tycznie na skutek aktywności własnych enzymów (TURKIEWICZ 1995), a następnie dzięki bakteriom rozwijającym się w ciągu kilku dni i przerastającym w całej masie szczątki kryla (ZDANOWSKI 1981, ZDANOWSKI 1988a).

WPLYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKA

Liczebność i funkcjonowanie bakterii w każdym naturalnym morskim ekosystemie zależy od czterech głównych czynników: temperatury, zasolenia, ciśnienia hydrostatycznego istniejącego w głębi oceanu oraz dostępności energii (w przypadku heterotrofów — materii organicznej).

TEMPERATURA

Oddziaływanie temperatury w przypadku bakterii psychrofilnych jest silniejsze niż wynikało to z zależności ustalonych dla ciepłolubnych organizmów, według których tolerancja termiczna zmienia się zgodnie z regułą $Q_{10} = 2$, co jest typowe dla większości reakcji chemicznych (HOCHAKA i SOMERO 1978). Jak wspomniano poprzednio bakterie psychrofilne funkcjonują dobrze w typowych temperaturach ich siedlisk, natomiast optima ich wzrostu i aktywności występują w temperaturach o kilka lub kilkanaście stopni wyższych. Nawet niewielkie wahania temperatury otoczenia przyspieszają lub zwalniają, efektywniej niż u bakterii ciepłolubnych, tempo ich procesów *in situ*. Badania LIPSKIEGO (1986), prowadzone w Zatoce Admiralicji, wykazały wąski zakres zmienności temperatur w ciągu roku (od $-1,77$ do $+1,76^{\circ}\text{C}$). VOŠIAN i OLAŃCZUK-NEYMAN (1991), badając w Antarktyce wpływ temperatury na aktywność systemu transportu elektronów (ETS), obserwowali Q_{10} równe 3,2, oraz energię aktywacji 18 Kcal na mol, co wskazuje na silną odpowiedź systemu na niewielkie zmiany temperatury.

ZASOLENIE

Znaczne wahania zasolenia wód Antarktyki, od kilkunastu do około 35‰ , są związane z powstawaniem i topnieniem lodu morskiego (GORDON i współaut. 1982), który w lecie pokrywa 3 miliony, a w zimie 20 milionów km^2 Oceanu Południowego (DOAKE 1987). Zamarzanie uruchamia jeden z mechanizmów cyrkulacji wody w skali Wszechoceanu; zimna, o wyższej gęstości woda opada wzdłuż kontynentalnego szelfu Antarktyki, osiągając dno, skąd jako antarktyczna woda denną (Antarctic Bottom Water) o temperaturze $-0,4^{\circ}\text{C}$ i zasoleniu $34,66\text{‰}$ płynie na północ do trzech oceanów, zabierając

ze sobą także mikroorganizmy (AUSTIN 1988). Ze znacznie większymi wahaniami zasolenia spotykają się antarktyczne mikroorganizmy żyjące w wypełnionych wodą przestrzeniach powstającego lodu morskiego. Zasolenie to waha się od prawie 0‰ w czasie topnienia lodu do 150‰ w czasie tworzenia się lodu. Jest to wynik procesu krystalizacji wody prowadzącego do zagęszczania soli na zewnątrz kryształów lodu (KOTTMEIER i SULLIVAN 1988).

CIŚNIENIE HYDROSTATYCZNE

Każdy organizm żyjący pod powierzchnią wody znajduje się pod wpływem ciśnienia hydrostatycznego. W wodach głębokich, poniżej 1000 m, ciśnienie wzrasta od 100 aż do 1100 atm w najgłębszym miejscu oceanu wynoszącym ponad 11 km. W związku z cyrkulacją wód oceanicznych, polegającej na opadaniu wód powierzchniowych (konwergencja), i wynoszeniu wód głębokich (dywergencja), która ma miejsce w Oceanie Południowym, bakterioplankton jest niezależnie od głębokości narażony na zmiany ciśnienia. Stąd ważną cechą wielu bakterii jest znaczna tolerancja wobec zmian ciśnienia hydrostatycznego, zauważona po raz pierwszy przez CERTESA (1884) u bakterii izolowanych z 5000 m i potwierdzona przez KRISSA (1963).

POKARM BAKTERII

Źródła energii w postaci dostępnej materii organicznej są jednym z głównych czynników regulującym tempo wzrostu morskich mikroorganizmów heterotroficznych. Rozróżnia się dwa typy materii organicznej, występującej w wodach morskich. Pierwsza określana jest w literaturze jako DOM (Dissolved Organic Matter), a druga jako materia zawieszona POM (Particulate Organic Matter). KARL i współaut. (1996), podsumowując dane wielu autorów podają, że DOM w rejonie Półwyspu Antarktycznego waha się od wartości śladowych do niezwykle wysokich, wynoszących ponad 12 mg na litr (Ryc. 1). Większość materii organicznej stanowi trudno rozkładalna biologicznie frakcja humusowa (WAGNER 1969) mająca trwałość nawet

kilku tysięcy lat. Część z niej może być zmieniona pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (UV-B) w kwas pirogronowy lub aldehyd mrówkowy i octowy, które są łatwo przyswajalne przez bakterie. Za główne źródło rozpuszczalnej materii organicznej w Oceanie Południowym uważa się po pierwsze uwalnianie przez fitoplankton części zasymilowanej materii (AUSTIN 1988), a w strefach przybrzeżnych — również przez makroglony (ZILIŃSKI 1981, DAWSON i współaut. 1985), a po drugie autolityczny lub bakteryjny rozkład obumarłych organizmów i spływ materii z ładów (ZDANOWSKI 1995). Jedną z właściwości bakterii, zwłaszcza bakterii heterotroficznych, jest zdolność do pobierania i wykorzystywania składników rozpuszczonej materii organicznej, występujących często w niskich stężeniach rzędu od 10^{-8} do 10^{-10} gramocząsteczki na litr. Ocenia się, że 30 do 50% materii produkowanej w oceanach drogą asymilacji jest zużytkowywanych przez bakterie heterotroficzne (AUSTIN 1988). Poprzez włączanie DOM w skład materiału komórkowego ba-

kterii, staje się ona w tej postaci dostępna dla kolejnego poziomu pokarmowego, to jest bakteriożernych pierwotniaków (SIEBURTH 1979). Zainicjowany zostaje w ten sposób przepływ energii od materii nieożywionej, poprzez bakterie do organizmów wyższych. Wynika z tego ważna rola tych bakterii w sieci pokarmowej Oceanu Południowego. Sieć pokarmowa podlega tu sukcesji sezonowej. W okresie wegetacyjnym uzależniona jest przede wszystkim od produkcji pierwotnej i pochodzącej od niej rozpuszczonej materii organicznej rozpuszczonej, której ponowne włączenie do sieci spowodowane jest przez bakterioplankton, a w okresie powegetacyjnym — od materii zawieszinowej, której zawartość jest 10–20 razy niższa od DOM. Dopływ materii zawieszinowej dostępnej dla procesów bakteryjnych jest warunkowany zarówno śmiertelnością planktonu i nektonu, jak i przyżyciowymi procesami - wydalaniem fekalii czy linieniem, które na przykład w wypadku kryla antarktycznego może mieć masowy charakter (HAMNER i współaut. 1983).

PROMIENIOWANIE UV-B W ANTARKTYCE

W Antarktyce szczególny wpływ na mikroorganizmy występujące w warstwie powierzchniowej (do głębokości 50m) wywiera promieniowanie słoneczne, a zwłaszcza promieniowanie ultrafioletowe.

Przed ćwierćwieczem MOLINA i ROWLAND (1974) opublikowali teorię głoszącą, że produkowane przez przemysł gazowe pochodne związków chlorofluoro węglowych (CFCs) mogą się powoli wznosić się do górnych warstw atmosfery i niszczyć ochronną warstwę ozonu, ograniczającą dopływ promieni ultrafioletowych do powierzchni ziemi. Od połowy lat siedemdziesiątych notuje się postępujące zmniejszanie się grubości warstwy stratosferycznego ozonu nad Antarktyką (MARCHANT 1994). Tak zwana „dziura ozonowa”, która pojawia się tam regularnie na wiosnę, prowadzi nie tylko do wzrostu promieniowania ultrafioletowego przy powierzchni ziemi, ale także zwiększa jego penetrację w głąb (do 50 m) morskich wód Antarktyki, co stwierdzono na przykładzie badań prowadzonych w Morzu Weddella (VOSJAN i współaut. 1996). Proces ten jest ułatwiony przez niską zawartość zawiesziny, brak substancji humusowych w tych wodach i ich dużą przezroczystość. Równocześnie trzeba stwierdzić, że właśnie ta warstwa wód jest środowiskiem życia mikroorganizmów (głonów, pierwotniaków i bakterii), odgrywających główną rolę w sieci pokarmowej Południowego Oceanu (ZDANOWSKI, w druku), a obecnie znaj-

dujących się pod coraz większym wpływem promieniowania ultrafioletowego. Również w wodach Zatoki Admiralicji (Wyspa Króla Jerzego - Antarktyka) zdolność przenikania promieniowania UV-B w głąb (do 35m, VOSJAN i PAUPITT 1992) była większa niż w innych ekosystemach przybrzeżnych na świecie. Fakt występowania w rejonie Zatoki Admiralicji wyższego niż w Europie Środkowej poziomu radiacji UV-B, mierzonego przy jednakowych odległościach zenitalnych Słońca, został potwierdzony badaniami PROŠEKA i JANOUCHA (1996).

Gdy mówimy o wpływie wzrastającego promieniowania UV, myślimy najczęściej o jego wpływie na organizm ludzki, zarówno negatywnym (powstawanie zaćmy i raka skóry, a także aktywacja utajonych wirusów), jak pozytywnym (indukcja syntezy prowitaminy D₃), podczas, gdy wpływ na globalne zmiany w ekosystemie jest mniej znany. Spośród procesów geochemicznych, na które ma wpływ wzrastające promieniowanie UV-b, wymienić można fotochemiczną produkcję wolnych rodników: wodorotlenowych (OH[•]), bromkowych (Br₂[•]), węglanowych (CO₃[•]) nadtlennokowych (O₂[•]) oraz rodników organicznych. Na przykład w wyniku działania rodników wodorotlenowych (MOPPER i ZHOU 1990), utleniających substancje, które zawierają siarkę, tworzy się w górnej warstwie oceanu trwałe, lotne tlenosiarczki węgla (COS), indukujący powstawanie chmur w stratosferze

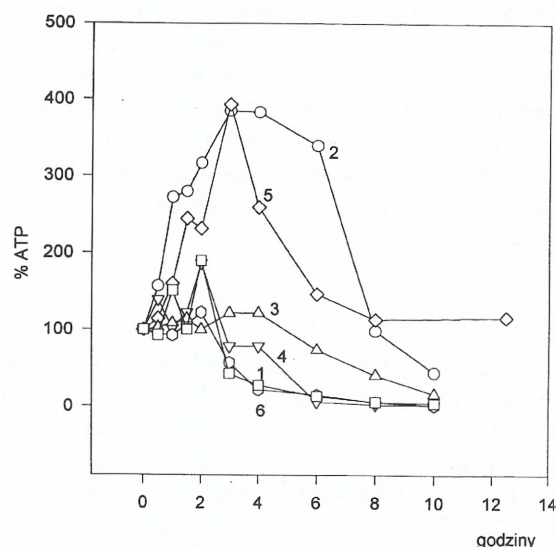
i stanowiący jeden z gazów wywołujących tzw. efekt cieplarniany (RAPORT 1994). Nasza wiedza o ekologicznych konsekwencjach przenikania promieni ultrafioletowych w głąb wód oceanicznych jest niewielka. SMITH i współaut. (1992) wykazali, że podczas stadium maksymalnego rozwoju „dziury ozonowej”, na przełomie września i października 1990 r. pierwotna produkcja biomasy fitoplanktonu obniżyła się przeciętnie o dwadzieścia procent. VOSIAN i współpr. (1990) wykazali tendencję do spadku poziomu adenozynotrójfosforanu (ATP) w Morzu Weddella, wiążąc ją z redukcją biomasy mikroorganizmów. Promieniowanie UV, silnie absorbowane przez kwasy nukleinowe (DNA i RNA — maksimum absorpcji przy 260 nm), białka (280 nm) i inne składniki komórek organizmów, wpływa na procesy wzrostu i reprodukcji wszelkich mikroorganizmów.

WPLYW PROMIENIOWANIA UV-B NA BAKTERIE

VOSIAN i ZDANOWSKI (w przygotowaniu do druku) zbadali w warunkach laboratoryjnych biologiczny wpływ promieniowania UV-B na 25 szczepów bakteryjnych, wyizolowanych z morskich środowisk Antarktyki: z wód Zatoki Admiralicji (z głębokości 5, 10, 50, 100 i 300m), z żołądka kryla (*Euphausia superba* i *Thysanoessa macrura*), z odchodów kryla, oraz z lodu morskiego i z wody na skraju paku lodowego pomiędzy wyspą Elephant i Południowymi Orkadami. Szczepy bakterii, zawieszone w sączonej wodzie morskiej (średnica porów filtra 0.2 m), umieszczonej w kwarcowych kuwetach, naświetlano w temperaturze 4°C promieniami UV-B (290 nm; 1,21 W m⁻²) przez 10 godzin wobec zawieszony kontrolnej nie naświetlanej promieniami UV-B. Oznaczono następnie zmiany zawartości komórkowego ATP, przeżywalność bakterii, zmiany w ogólnej liczbie bakterii i objętości komórek, oraz zmiany właściwości enzymatycznych komórek w oparciu o system API 20NE bioMerieux (ZDANOWSKI i DONACHIE 1993).

ZMIANY ZAWARTOŚCI ATP W KOMÓRKACH BAKTERII

W zdrowych komórkach organizmów żywych zachodzi stale synteza adenozynotrójfosforanu (ATP) — związku pełniącego kluczową rolę w przemianie materii. Jako nośnik energii ATP sprzęga reakcje kataboliczne (energotwórcze) z reakcjami anabolicznymi (energościerającymi) w systemach biologicznych. Jeśli gdziekolwiek w komórce jedna z tych reakcji jest zaburzona natychmiast odbija się to na zawartości



Ryc. 2. Zmiany zawartości ATP u kilku przedstawicieli bakterii antarktycznych, wyizolowanych z różnych środowisk morskich w Antarktyce, podczas 10 godzinnej ekspozycji na promieniowanie UV-B.

Zmiany te przedstawiono w procentach ATP bakterii naświetlanych w stosunku do ATP bakterii kontrolnych, nie naświetlanych promieniami UV-B. Numery wykresów oznaczają miejsca, z których wyizolowano szczepy bakterii: 1 i 2 — wody powierzchniowe Zatoki Admiralicji; 3 — wody przy paku lodowym w Cieśninie Drakea; 4 — lód morski w Cieśninie Drakea; 5 i 6 — żołądek kryla.

ATP. Charakterystycznym zjawiskiem, występującym pod wpływem promieniowania UV-B z różną siłą u różnych szczepów bakterii, był wzrost zawartości bakteryjnego ATP w początkowej fazie ekspozycji; wzrost ten osiągał od kilkunastu do kilkuset procent wyjściowej wartości (Ryc. 2). Szczytowe wartości ATP pojawiały się po 0,5 do 4 godzin naświetlania, po czym zawartość ATP spadała, w różnym tempie u różnych szczepów. Może to oznaczać, że w początkowej fazie naświetlania anaboliczne reakcje są uszkodzane, podczas gdy produkcja ATP jest kontynuowana.

PRZEŻYWAŁNOŚĆ BAKTERII

Spośród 25 badanych szczepów po 10 godzinach ekspozycji w UV-B, 6 utraciło całkowicie zdolność do wytwarzania kolonii na pożywce agarowej. Dla reszty przeżywalność, wyrażona stosunkiem procentowym liczby kolonii po naświetleniu UV do liczby kolonii w warunkach kontrolnych (bez UV), wahała się od 0.008% do 3.2%. Zauważono przy tym, że bakterie pochodzące ze środowisk naturalnych, narażonych na promieniowanie UV, wykazywały mniejszą wrażliwość na laboratoryjne traktowanie promieniami UV, niż bakterie pochodzące ze śro-

dowisk zacięzionych (przewód pokarmowy kryla). Najwyższą przeżywalnością odznaczały się intensywnie pigmentowane szczepy. Nie stwierdzono istotnych zmian w ogólnej liczbie bakterii i w objętości komórek po 10 — godzinnym naświetlaniu UV-B, natomiast liczba bakterii w próbie kontrolnej w tym czasie wzrosła średnio o 27%.

LETALNY WPŁYW UV-B NA BAKTERIE

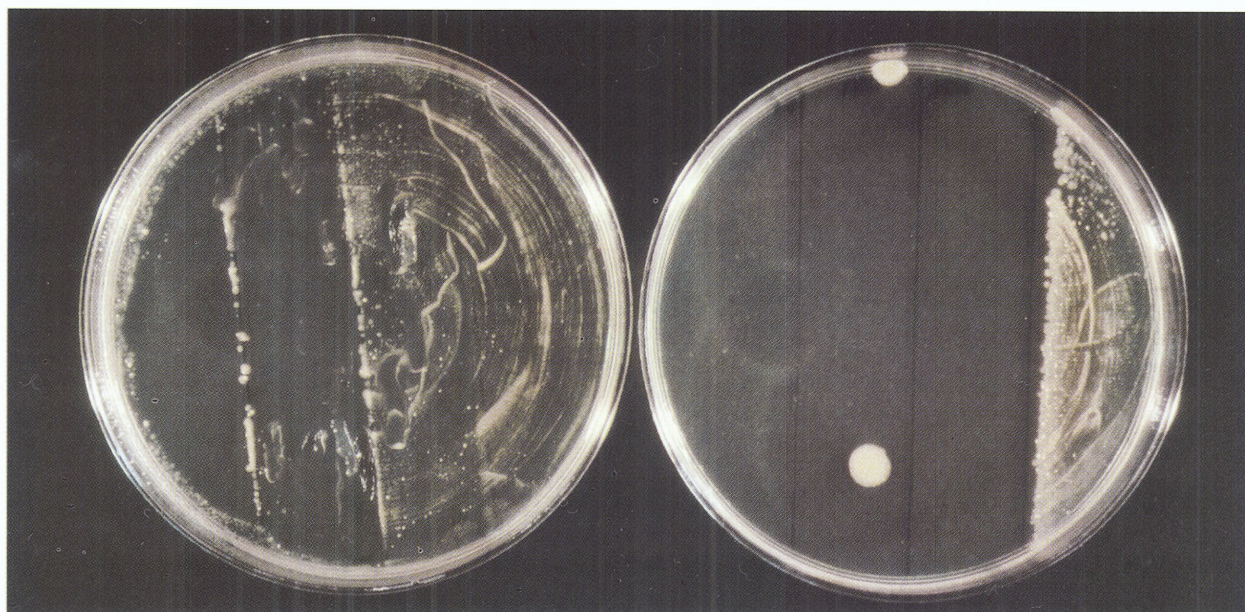
W celu zbadania letalnego wpływu promieniowania UV-B na bakterie, użyto płytek z agarrem odżywczym, zaszczerpionym gęstą, czystą kulturą bakterii. Każdą płytkę podzielono na 4 części przez narysowanie czarnych linii na dnie płytek. Czas ekspozycji poszczególnych części płytki był kontrolowany przez nakładanie lub usuwanie czarnej nakładki kartonowej na odpowiednie części płytki. Płytki były naświetlane (UV-B) przez 0, 2, 4, 6 godzin, jedne od frontu, drugie od tylnej strony. W drugim przypadku promienie UV-B musiały penetrować przez czarne linie i agar, aby osiągnąć dawkę bakterieryjnej szczepionki. Po 8 dniach inkubacji wszystkie kontrolne części płytki (bez UV) były pokryte jednolitą warstwą bakterii, podczas gdy pozostałe części, naświetlane od frontu były puste. Po 2 godzinach naświetlania płytek od tyłu setki kolonii pokrywały powierzchnię agaru. Mniejszą ale wciąż jeszcze znaczną liczbę kolonii odnotowano po 4 godzinach naświetla-

nia. Żadnych kolonii nie stwierdzono po 6 godzinach naświetlania UV-B. Największą koncentrację kolonii obserwowano (nawet po 6 godzinach naświetlania) w miejscach zacięzionych przez czarne linie (Ryc. 3). Wskazuje to na istotną rolę zacięzionych siedlisk bakterieryjnych dla przeżywalności bakterii w środowiskach znajdujących się pod wpływem wzmożonego promieniowania UV-B.

ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI ENZYMATYCZNYCH KOMÓREK BAKTERII

Różne szczepy reagowały specyficznie na promieniowanie UV-B. Eliminowało ono, w zależności od użytego szczepu, zdolność do asymilacji niektórych testowanych cukrów, ich pochodnych i kwasów organicznych (np. glukozy, mannitolu, N-acetyl-glukozaminy, kwasu cytrynowego i innych), przy czym nawet najwyższe otrzymane dawki UV-B nie zablokowały wszystkich procesów, stwierdzanych w oparciu o testy API. Niektóre enzymy (np. ureaza, oksydaza cytochromowa) były inaktywowane w czasie naświetlania UV-B, podczas gdy reduktaza azotanowa była w tych warunkach indukowana.

Reasumując, stwierdzono ogromne zróżnicowanie badanych 25 szczepów bakterii pod względem ich wrażliwości na działanie UV-B. Sugeruje to, że w środowisku morskim Antarktyki, eliminowane są formy wrażliwe na dzia-



Ryc. 3. Letalny wpływ UV-B na bakterie.

Dwie płytki agarowe zaszczerpiono gęstą kulturą bakterii. Trzy strefy naświetlano promieniami UV-B, odpowiednio przez 2, 4, 6 godzin, a czwartą, strefę kontrolną, pozostawiono nienaświetloną. Na płytkach naświetlanych od frontu (lewa płytka), tylko w strefie kontrolnej był wzrost kultury bakterii. Na płytce naświetlanej od tyłu (prawa płytka) agar absorbował częściowo promienie UV-B, dzięki czemu w strefach o 2 i 4 godzinnym napromieniowaniu pojawiał się wzrost kolonii. W miejscach zacięzionych przez czarne linie wzrost kolonii był jeszcze bardziej wyraźny.

łanie UV-B i zastępowane są przez formy odporne. Najbardziej wrażliwe szczepy pochodziły z

siedlisk, gdzie nie dochodzi promieniowanie UV-B.

ANTARCTIC MARINE BACTERIA VERSUS UV-B IRRADIATION

Summary

The most important stages of knowledge development in Antarctic marine microbiology, from the beginning of this century, were reviewed and systematized. Multi-annual studies from 1978 to 1988 (ZDANOWSKI 1995) demonstrated a great variation in total and saprophytic bacterial numbers at different sites in the Antarctic (Table 1). These sites included inshore waters (Admiralty Bay), open ocean waters (Drake Passage and Bransfield Strait), and the vicinity of pack-ice in Scotia Sea (Fig. 1). Bacterial biomass, which is highly comparable to that of other organisms, combined with many times shorter bacterial generation time, (in case of saprophytic population it amounts to 17.5 h), must have profound consequences for cold marine ecosystems of the Antarctic. Higher numbers of bacteria were found in open surface waters, down to 75 m. High transparency of oceanic offshore waters causes that UV radiation (280–400 nm) penetrates to biologically effective depths to about 50 m. The UV-B sensitivity of 25 Antarctic bacterial strains from the following various habitats: coastal waters, krill stomach, krill faeces, water ice edge, water below ice and sea ice was examined. The strains were irradiated in UV-B transparent cuvettes on an optical bench with artificial UV-B (290 nm; 1.21 W m^{-2}) during 10 hours in temperature 4°C . ATP (adenosine triphosphate), number of bacterial cells, lethal effect of UV-B and survival of bacteria, total bacterial number, biovolume and changes in biochemical/physiological properties have been estimated. The results indicated a high interspecific variability in the sensitivity against UV-B.

The ATP content show at the beginning of irradiation an increase (reaching typical for individual species maximum, at 0.5 to 4 hours) and afterwards a decrease to the level above zero (also characteristic of species) (Fig. 2). We hypothesise that first anabolic processes and after that catabolic processes are destroyed by UV. Survival of the bacterial strains ranged between 0 and 3.2%. Among 25 bacterial strains only six were not able to survive 10 hours UV-B irradiation. The most sensitive strains were isolated from habitats protected from UV radiation (krill stomach, sea ice). The additional experiment, showing the lethal effect of UV-B for bacteria, throws light on the importance of shadowed environmental niches for bacterial survival in regions of the highest UV irradiance (Fig. 2). Total cell number did not change significantly when exposed to UV-B radiation for 10 h while without UV bacterial number increased by 27% during this period. The biovolume of strains used in this study which ranged from 0.14 to $13.7 \mu\text{m}^3 \text{cell}^{-1}$ also did not change significantly after 10 hours irradiation. Preliminary results show that the API 20NE test can be used to show changes in enzymatic abilities. Even 10 hours irradiation were not able to inhibit all enzymatic processes demonstrated by API 20NE system. The high variability in UV-B sensitivity of Antarctic bacteria may lead to shifts from normal bacterial strains to more resistant, and thus to establish bacterial community adapted to life at risen UV-B level in the upper layer of Antarctic marine ecosystems.

LITERATURA

- AUSTIN B., 1988. *Marine microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge. str. 222.
- BROCK T. D., 1967. *Life at high temperatures*. Science. 158, 1012–1019.
- BUNT J. S., WOOD E. J. F., 1963. *Microalgae and Antarctic sea-ice*. Nature. 199, 1254–1255.
- CERTES A., 1884. *Sur la culture, a l'abri des germes atmospheriques, de eaux et des sediments rapportes par les expeditions du Travailleur et du Talisman; 1882–1883*. Compt. Rend. Acad. Sci., Paris. 99, 385–388.
- CHRÖST R. J., 1991. *Environmental Control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes*. [W:] *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. CHRÖST R. J. (red.), Springer-Verlag. New York. 29–59.
- DALY K. L., 1990. *Overwintering development, growth, and feeding of larval Euphausia superba in the Antarctic marginal ice zone*. Limnol. Oceanogr. 35, 1564–1576.
- DARLING C. A., SIPLE P. A., 1941. *Bacteria of Antarctica*. J. Bacteriol. 42, 83–98.
- DAWSON R., SCHRAMM W., BÖLTER M., 1985. *Factors influencing the production, decomposition and distribution of organic and inorganic matter in Admiralty Bay, King George Island*. [W:] *Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs*. SIEGFRIED W. R., CONDY P. R., LAWS R. M. (red.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 109–114.
- DOAKE C. S. M., 1987 *Antarctic ice and rocks*. [W:] *Antarctic Science*. WALTON D. W. H. (red.), Cambridge University Press. 139–190.
- DONACHIE S. P., 1995. *Ecophysiological description of marine bacteria from Admiralty Bay (Antarctica), and the digestive tracts of selected Euphausiidae*. [W:] *Microbiology of Antarctic marine environments and krill intestine, its decomposition and digestive enzymes*. RAKUSA-SUSCZEWSKI S., DONACHIE S. P. (red.), Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences. Warsaw. 101–196.
- DONACHIE S. P., ZDANOWSKI M. K., 1998. *Potential digestive function of bacteria in krill Euphausia superba stomach*. Aquat. Microb. Ecol. 14, 129–136.
- DONACHIE S. P., SABOROWSKI R., PETERS G., BUCHOLTZ F., 1995. *Bacterial digestive enzyme activity in the stomach and hepatopancreas of Meganyctiphanes norvegica M. Sars, 1857*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 188, 151–165.
- EDDY B. P., 1960. *The use and meaning of the term „psychrophilic”*. J. Appl. Bacteriol. 23, 189–190.
- EKELÖF E., 1908. *Bakteriologische Studien während der Schwedischen Südpolar-Expedition*. Wiss. Ergeb. der Schwed. Südpolar Expedition. 1901–1903, Stockholm, Band VII, Lief. 7, 120 str.
- GARRISON F. D. L., ACKLEY F. S. F., BUCK F. K. R., 1983. *A physical mechanism for establishing algal populations in frazil ice*. Nature. 306, 363–365.
- GORDON A. L., MOLINELLI E. J., BAKER T. N., 1982. *Southern Ocean Atlas*. Columbia University Press, New York. 11 str., 233 mapy.
- GAZERT H. M., 1912. *Untersuchungen über Meeresbakterien und ihren Einfluss auf den Stoffwechsel im Meere*. Deutsche Südpolar — Expedition 1901–1903. Georg Reimer, Berlin. 7 (3), 1–296.
- HAMNER W. M., HAMNER P. P., STRAND S. W., GILMER R. W., 1983. *Behavior of Antarctic krill, Euphausia superba: chemoreception, feeding, schooling, and molting*. Science. 220, 433–435.

- HANSON R. B., SHAFER D., RYAN T., POPE D. H., LOWERY H. K., 1983. *Bacterioplankton in Antarctic Ocean Waters During Late Austral Winter: Abundance, Frequency of Dividing Cells, and Estimates of Production*. Appl. Environ. Microbiol. 45, 1622–1632.
- HOCHACHKA P. W., SOMERO G. N., 1978. *Strategie adaptacji biochemicznych*. PWN Warszawa 1978. 455 str.
- HODSON, R. E., AZAM, F., CARLUCCI, A. F., FUHRMAN, J. A., KARL, D. M., HOLM-HANSEN, O., 1981. *Microbial uptake of dissolved organic matter in McMurdo Sound, Antarctica*. Mar. Biol. 61, 89–94.
- KANEKO T., ATLAS R. M., KRICHEVSKY M., 1977. *Diversity of bacterial population in the Beaufort Sea*. Nature. 270, 596–599.
- KANEKO T., ROUBAL G., ATLAS R. M., 1978. *Bacterial populations in the Beaufort Sea*. Arctic. 31, 91–107.
- KARL D. M., CHRISTIAN J. R., DORE J. E., LETELIER R. M., 1996. *Microbiological oceanography in the region west of the Antarctic Peninsula: microbial dynamics, nitrogen cycle and carbon flux*. Foundation for ecological research west of the Antarctic Peninsula Antarctic Research Series. 70, 303–332.
- KOTTMEIER S. T., SULLIVAN C. W., 1988. *Sea ice microbial communities (SIMCO). IX. Effects of temperature and salinity on rates of metabolism and growth of autotrophs and heterotrophs*. Polar Biol., 8, 293–304.
- KOTTMEIER S. T., SULLIVAN C. W., 1990. *Bacterial biomass and production in pack ice of Antarctic marginal ice edge zones*. Deep-Sea Res. 37, 1311–1330.
- KRISS A. E., 1963. *Marine microbiology Deep Sea*. Oliver and Boyd Ltd. Edinburgh and London. 536 str.
- LEBEDEVA M. N., 1958. *Kolicestvennoe raspredelenie geterotrofnich mikroorganizmov v Indijskom Okeane i priliegajuschich morjach Antarktiki. (Quantitative distribution of heterotrophic microorganisms in the Indian Ocean and in adjoining Antarctic Seas)*. Dokl. Akad. Nauk SSR. 121, 557–560.
- LIGOWSKI R., GODLEWSKI M., ŁUKOWSKI A., 1992. *Sea ice diatoms and ice edge planktonic diatoms at the northern limit of the Weddell sea pack ice*. Proc. NIPR Symp. Polar Biol. 5, 9–20.
- LIPSKI M., 1986. *Zmienność warunków fizycznych, biogenów i chlorofilu a w Zatoce Admiralicji (Antarktyka)*. Praca doktorska. Instytut Ekologii PAN, Dziekanów Leśny 1986.
- MARCHANT H. J., 1994. *Biological impacts of seasonal ozone depletion*. [W:] *Antarctic Science Global Concerns*. HEMPEL G. (red.), Springer Verlag. 95–109.
- MCLEAN A. L., 1918. *Bacteria of ice and snow in Antarctica*. Nature, London. 102, 35–39.
- MOLINA M. J., ROWLAND F. S., 1974. *Stratospheric sink for chlorofluoromethanes — chlorine atomic — catalysed destruction of ozone*. Nature, 249, 810–812.
- MOPPER K., ZHOU X., 1990. *Hydroxyl radical photoproduction in the sea and its potential impact on marine processes*. Science. 250, 661–664.
- MORITA R. Y., 1975. *Psychrophilic bacteria*. Bacteriol. Rev., 39, 144–167.
- MORITA R. Y., 1976. *Survival of bacteria in cold and moderate hydrostatic pressure environments with special reference to psychrophilic and barophilic bacteria*. [W:] *The Survival of Vegetative Microbes. 26th Symposium of the Society of General Microbiologists*. GRAY T. G. R., POSTAGE J. R. (red.), Cambridge University Press, Cambridge, 279–298.
- MORITA R. Y., HAIGHT R. D., 1964. *Temperature effects on the growth of an obligate psychrophilic marine bacterium*. Limnol. Oceanogr. 9, 102–106.
- PALMISANO A. C., GARRISON F. D. L., 1993. *Microorganisms in Antarctic sea ice*. [W:] *Antarctic Microbiology*. FRIEDMANN E. I. (red.), Wiley-Liss. Inc. New York. 167–218.
- PIRIE J. E. H., 1912. *Notes on Antarctic bacteriology*. Scottish National Antarctic Expedition. Report of the Scientific Results of the S. Y. Scotia, Vol. 3 Botany, No. 10, 137–148.
- PORTER K. G., FEIG Y. S., 1980. *The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora*. Limnol. Oceanogr. 25, 943–948.
- PROSEK P., JANOUCHE M., 1996. *The measurement of ultraviolet radiation at the Polish Henryk Arctowski Station (South Shetlands — Antarctica) in the summer of 1994/95*. Problemy Klimatologii Polarnej 6, 139–146, WSM Gdynia.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI S., 1972. *The biology of Paramoera walkeri Stebbing Amphipoda and the Antarctic sub-fast ice community*. Pol. Arch. Hydrobiol. 19, 11–36.
- RAKUSA-SUSZCZEWSKI S., ZDANOWSKI M. K., 1989. *Bacteria in krill Euphausia superba Dana stomach*. Acta Protozool. 28, 87–90.
- RAPORT 1994. *UV radiation from sunlight. Report of a committee of the Health Council of the Netherlands. Health Council of the Netherlands: Risk of UV radiation Committee*. The Hague; publication no 1994/05E.
- SIEBURTH J. McN., 1960. *Acrylic acid, an „antibiotic” principle in Phaeocystis blooms in Antarctic WATERS*. Science. 132, 676–677.
- SIEBURTH J. McN., 1964. *Polymorphism of a marine bacterium Arthrobacter as a function of multiple temperature optima and nutrition*. [W:] Proc. Symp. Exp. Mar. Ecol. Occas. Publ., No. 2, Grad. Sch. Oceanogr., Univ. R. I., Kingston, R. I., 11–16.
- SIEBURTH J. McN., 1965. *Microbiology of the Antarctic*. [W:] *Biogeography and ecology in Antarctica*. OYE P. V. MIEGHEM J. V. (red.), Dr. W. Junk, Pub., The Hague, 267–295.
- SIEBURTH J. McN., 1979. *Sea Microbes*. Oxford University Press, Inc. New York. 491 str.
- SMITH R. C., PREZELIN B. B., BAKER K. S., BIDIGARE R. R., BOUCHER N. P., COLEY T., KARENTZ D., MACINTYRE S., MATLICK H. A., MENZIES D., ONDRUSEK M., WAN Z., WATERS K. J., 1992. *Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic WATERS*. Science 255, 952–959.
- SOROKIN YU. I., PAVELYEVA E. B., VASILYEVA M. I., 1977. *Productivity and the trophic role of bacterioplankton in the region of equatorial divergence*. Pol. Arch. Hydrobiol., suppl. 24, 241–259.
- STANIER R. Y., DOUDORFF M., ADELBERG E. A., 1958. *General Microbiology*. Macmillan Co Ltd, London, str. 682.
- TSIKLINSKY M., 1908. *La flore microbienne dans les régions du Pôle Sud. Expédition Antarctique Française, 1903–1905*. Masson et Cie, Paris. str. 36.
- TURKIEWICZ M., 1995. *Characterisation of some digestive enzymes from Euphausia superba Dana*. [W:] *Microbiology of Antarctic marine environments and krill intestine, its decomposition and digestive enzymes*. RAKUSA-SUSZCZEWSKI S., DONACHIE S. P. (red.), Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences. Warsaw. 197–254.
- VOSJAN J. H., DOHLER G., NIEUWLAND G., 1990. *Effect of UV-B irradiance on ATP content of microorganisms of the Weddell Sea (Antarctica)*. Neth. J. Sea Res. 25, 391–393.
- VOSJAN J. H., OLAŃCZUK-NEYMAN K. M., 1991. *Influence of temperature on respiratory ETS-activity of microorganisms from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica*. Neth. J. Sea Res. 28, 221–225.
- VOSJAN J. H., PAUPTIT E., 1992. *Penetration of photosynthetically available light (PAR), UV-a and UV-b in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica*. Circumpolar J. 7, 50–58.
- VOSJAN, J. H., VAN BALEN, A. L. H. H., ZDANOWSKI, M. K., 1996. *Microbial biomass and light attenuation (PAR, UV-a,*

- UV-b) in the Weddell Sea and the effect of UV-b on the ATP content of microbes. *Circumpolar J.* 11, 28–32.
- WAGNER F. S. Jr., 1969. Composition of the dissolved organic compounds in seawater: A review. *Contr. Mar. Sci.* 14, 115–153.
- WIEBE W. J., HENDRICKS C. W., 1974. Distribution of heterotrophic bacteria in a transect of the Antarctic Ocean. [W:] *Effects of the ocean environment on microbial activities*. Colwell R. R. MORITA R. Y. (red.), University Park Press, Baltimore. 524–535.
- ZDANOWSKI M. K., 1981. Growth of bacteria in the course of decomposition of *Euphausia superba* Dana. *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. Sci. Biol.* 29, 155–161.
- ZDANOWSKI M. K., 1988a. Matter conversion in the course of krill *Euphausia superba* Dana decomposition in the Antarctic ecosystem. Part I. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 35, 65–96.
- ZDANOWSKI M. K., 1988b. Bacteria in pack-ice north of Elephant Island BIOMASS III, October 1986. *Pol. Polar Res.* 9, 203–216.
- ZDANOWSKI M. K., 1995. Characteristics of bacteria in selected Antarctic marine habitats. [W:] *Microbiology of Antarctic marine environments and krill intestine, its decomposition and digestive enzymes*. RAKUSA-SUSCZEWSKI S., DONACHIE S. P. (red.), Department of Antarctic Biology, Polish Academy of Sciences. Warsaw. 7–100.
- ZDANOWSKI M. K., (w druku). Factors regulating bacterial abundance in Antarctic coastal and shelf waters. *Pol. Polar Res.*
- ZDANOWSKI M. K., DONACHIE S. P., 1993. Bacteria in the sea-ice zone between Elephant Island and the South Orkneys during the Polish sea-ice zone expedition, December 1988 to January 1989. *Polar Biol.* 13, 245–254.
- ZILIŃSKI K., 1981. Benthic macroalgae of Admiralty Bay King George Island, South Shetland Islands and circulation of algal matter between the water and the shore. *Pol. Polar Res.* 2, 71–94.
- ZIMMERMANN R., MEYER-REIL L. A., 1974. A new method for fluorescence staining of bacterial populations on membrane filters. *Kiel. Meeresforsch.* 30, 24–27.