

**En undersøkelse av bentiske diatomeer i Sandspollen og Drøbaksundet
igjennom et år**

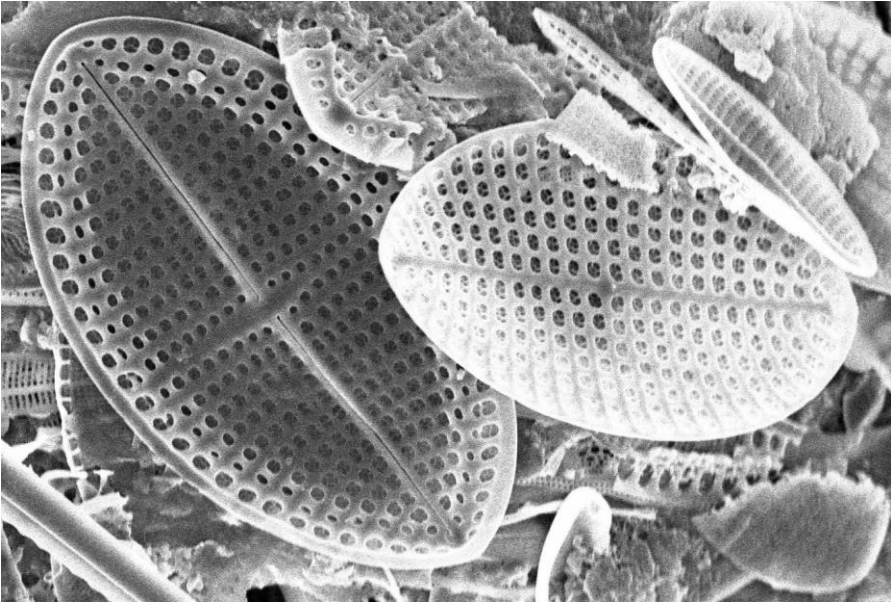
Jonas Haugland



Master i Marinbiologi
Seksjon for Marinbiologi og Limnologi
Institutt for Biovitenskap

UNIVERSITETET I OSLO

1. september, 2019



© Jonas Haugland

År: 2019

Tittel: En undersøkelse av bentiske diatomeer i Sandspollen og Drøbaksundet igjennom et år.

Forfatter: Jonas Haugland

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Sammendrag

Bentiske alger og ålegras utgjør to viktige marine habitater langs Norges kystlinje. Bentiske diatomeer som epifytter er ofte funnet på disse. Det er ingen tidligere studier fra tempererte områder av sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og hvordan bentiske diatomeer benytter disse habitatene. Dette studiets mål var å undersøke om det finnes en sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer på ålegras og bentiske makroalger i Sandspollen og Drøbak. Sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer ble undersøkt i relasjon til silikat, temperatur og salinitet.

Prøvetakning foregikk månedlig og silikat, temperatur og salinitet i overflatevann ble registrert ved hver prøvetakning. Sleakter av bentiske diatomeer ble bestemt ved observasjon av morfologiske karaktertrekk, til lavest mulig taksonomisk nivå. Både lysmikroskopi og Scanning elektron mikroskopi (SEM) ble benyttet.

Totalt ble det funnet 20 slekter av diatomeer. Slekter som *Cocconeis* og i mindre grad *Rhabdonema* og *Navicula* dominerte prøvene. Det var en variasjon i forekomst av bentiske diatomeer i løpet av studieperioden, med høye forekomster i vårmånedene og mindre forekomster i sommermånedene. En sammenheng mellom registrert silikat, temperatur eller salinitet og forekomst av bentiske diatomeer ble ikke funnet.

Dette studiet viser sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer i ålegrasenger i Sandspollen og bentosalger i Drøbak. Kunnskap om sesongmessig variasjon av bentiske diatomeer bør innebefattes for riktig forvaltning av marine økosystemer med både ålegras og bentosalger. Denne kunnskapen er viktig for forståelse av samspillet i habitater som ålegrasenger og bentosalger, og hvilke konsekvenser økt menneskelig påvirkning innebærer.

Forord

Fremfor alt ønsker jeg å takke mine veiledere Stein Fredriksen og Wenche Eikrem for god faglig og praktisk hjelp, samt veiledning og tålmodighet igjennom arbeidet med denne oppgaven. Takk for deltakelse under feltarbeid og gode tilbakemeldinger under skrivearbeidet. Takk til Adil Al-Handal for hjelp med klassifisering av en betydelig mengde data på kort tid, da dette var til stor hjelp.

Takk til elektronmikroskopisk laboratorium (IBV EM lab) for bruk av utstyr og mikroskop og nyttig hjelp fra Norbert Roos, Antje Hofgaard og Jens Wholmann. Takk til Rita Amundsen for hjelp med forberedende laboratoriearbeid og Hans Erik Karlsen for bruk av utstyr i felt.

Til slutt en takk til familie og venner som har vist støtte fra dag en.

Innholdsfortegnelse

1 Innledning	1
1.1 Vertsplanter	1
1.2 Miljøparametere	2
1.2.1 Silikat	2
1.2.2 Temperatur	3
1.2.3 Salinitet	3
1.3 Mål	3
2 Matriale og metoder	4
2.1 Prøveområde	4
2.1.1 Drøbak	4
2.1.2 Sandspollen	4
2.2 Feltarbeid	4
2.2.1 Innsamling av materialet	5
2.2.2 Vannparametere	5
2.3 Lab arbeid	5
2.3.1 Lysmikroskopi	5
2.3.2 SEM mikroskopi	6
3 Resultater	7
3.1 Taksonomisk oversikt	7
3.2 Sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer	21
3.3 Silikat, temperatur og salinitet	22
4 Diskusjon	24
4.1 Sesongmessig variasjon av forekomst	24
4.2 Relevans av silikat, temperatur og salinitet	25
4.3 Resultatenes verdi og videre forvaltning	26

5 Konklusjon	27
Litteraturliste	28
Appendiks. Protokoller	30

1. Innledning

Det finnes mange ulike marine habitater langs Norges kystlinje. Sjøgressenger og fjæresone med makroalger er særdeles viktig leveområder for mange marine arter. Slike områder skaper et tredimensjonalt habitat for ulike dyr, fra krepsdyr til fisk. Samtidig er sjøgress og makroalger substrat for mange fastsittende alger og dyr. Marine epifytter er fastsittende organismer som benytter en alge eller en plante som substrat (epi betyr på, phytos henspiller til en plante). I marine økosystemer er det alger som er den vanligste gruppen med epifytter. Mengden epifytter er avhengig av flere faktorer slik som næring, lys og temperatur. For mye epifytter kan være skadelig for vertsorganismen på grunn av konkurranse næring eller lys. Marine epifytter har ofte en kort generasjonstid som muliggjøres av hurtig vekst.

Både sjøgress og makroalger er benyttet som substrat for fastsittende diatomeer (kiselalger). Det er gjennomført få studier av fastsittende kiselalger og deres sesongmessige variasjon, og hvordan disse organismene påvirker økosystemet. Siden det kan være store forskjeller mellom artsmangfold og opptreden i et tidsrom på et år er sesongmessige studier viktige for å oppnå et fullstendig bilde av kiselalgene i disse habitatene.

1.1 Vertsplanter

Sjøgress

Det finnes omtrent 60 arter av sjøgress globalt, og deres utbredelse er fra arktiske havområder til tropiske strøk (Orth et al., 2006). Sjøgress er den eneste gruppen av høyere blomsterplanter som har tilpasset seg helt til marine habitater, med evne til vekst og reproduksjon i saltvann eller brakkevann. (Larkum et al., 2006). Sjøgress vokser i områder beskyttet fra høy eksponering av bølger og tidevann i kystområder, helst i områder med mudder eller sandbunn. Sjøgress stiller spesielt høye krav til lys grunnet respirasjon i rotstrukturer (rhizomer) som er nedsunket i mudder eller sandbunn hvor det er lite oksygen eller anoksiske forhold. Den vanligste arten sjøgress i norske farvann er *Zostera marina* L., og *Z. marina* finnes på store deler av den nordlige halvkule.

Brunalger

Det finnes omtrent 1500 arter av brunalger på verdensbasis og de er vanligst i arktiske til tempererte strøk i kaldere vann (Hoek et al, 1995). Brunalger er flercellede alger som utgjør viktige habitater og nisjer i marine økosystemer. Brunalger har tilpasset seg til marine økosystemer og kystvann hvor de i Norge er spesielt vanlig langs svaberg og steinete kyst. I Norge har vi rundt 180 arter av brunalger. Disse er vanlige fra fjæra som domineres av forskjellige tangarter, og i sjøsonen (sublitoralen) med forskjellige tarearter.

Rødalger

Det finnes omtrent 7000 arter av rødalger verden over og er med dette en av de største gruppene av alger (Guiry, M.D & Guiry G.M, 2016). Rødalger finnes særlig i tidevannssonen på svaberg og steinete kyst, men forekommer også ofte som epifytter på andre alger eller dyr. De fleste rødalger er flercellede og marine, og er vanlige i Norge sammen med brunalger som tang og tare. Noen rødalger er også spesielt viktige kommersielt, som for eksempel som råmateriale for produksjon av agar og andre tilsetningsstoffer i mat.

1.2 Miljøparametere

Det finnes en rekke omstendigheter som kan få organismer til å forandre både fysiologiske trekk og adferd. Habitater med ugunstige forhold tilknyttet miljø påvirker i stor grad organismer negativt, og kan tolereres på ulike måter. Hos fastsittende alger som diatomeer utgjør dette en utfordring, særlig fordi algene er totalt avhengige av vannstrømmene for optimale forhold. Diatomeer har også vist seg å være en viktig indikator på grunn av deres sensitive natur og kvikke respons til endringer i marine økosystemer (Smol & Stoermer, 2010).

1.2.1 Silikat

Diatomeer i pelagiske marine økosystemer er kjent for store, ofte kortvarige algeoppblomstringer, dersom forholdene i vannmassene ligger til rette, spesielt med hensyn på stratifisering av vannmassene, tilgang på næringsstoffer og lys. Særlig på våren kan diatomeene utkonkurrere andre alger og dominere fytoplanktonpopulasjonen. Dette er mulig med hurtig vekst og kort generasjonstid. Silikat utgjør en viktig komponent for diatomeer med tanke på deres cellevegg og det er spekulert i at deres suksess ligger i at det er mer energi kostbart å lage cellevegger av organisk materialet enn silikat, 8% mer energieffektivt (Egge og Aksnes, 1992). Silikat i Oslofjorden er tilført ved avrenning fra land, særlig på våren da is og snø smelter, med tidevann og fra vassdrag utover i fjorden. Størst er konsentrasjonen om høsten etter omrøring av vannmasser og næringsrikt dypvann bringes opp til overflaten før algeoppblomstringen, og det er vist i Oslofjorden at silikatnivået er sterkt redusert eller oppbrukt etter algeoppblomstringen på våren (Kristiansen et al, 2001). Det finnes tilfeller hvor oppblomstringen av diatomeer ender før alle næringsstoffene er oppbrukt, trolig grunnet koagulerings-teorien, hvor plass blir oppbrukt før næringsstoffene (Kristiansen et al, 2001). Under sesonger med lite silikat vil diatomeer bli utkonkurrert av annet fytoplankton, spesielt mobile dinoflagellater (Wasmund et al, 2013).

1.2.2 Temperatur

Temperatur er en faktor som påvirker alle kjemiske reaksjoner. Hos diatomeer påvirkes blant annet primærproduksjon og andre fysiologiske mekanismer av temperatur. Milde vintre med høyere temperaturer kan for eksempel være en utfordring for diatomeer, enten ved mangelfull omrøring av vannmasser som medfører mindre næringsstoffer og økt konkurranse, stratifiseringshypotesen, eller ved økt press fra beitende arter som utgjør en kontroll for diatomepopulasjonen, beitehypotesen (Wasmund et al, 2013). Temperatur påvirker derfor forekomst av fytoplankton samt andre organismer i økosystemet, hvorav noen er mer eller mindre tolerante ovenfor spesifikke verdier av temperatur. Temperatur varierer også over tidsperioder som sesong.

Overflatevannet i indre Oslofjord har betydelig sesongmessig variasjon i henhold til temperatur. Temperaturer på 0 til 20 C er normalt, men avvik kan forekomme. Under vintermånedene kan isdannelse oppstå. Indre Oslofjords dypere vannmasser er relativt stabile, mens vannmasser fra 0 til 50 m blir gradvis påvirket av faktorer som temperatur og salinitet (Gade, 1968).

1.2.3 Salinitet

Salinitet påvirker spesielt ione-sammensetningen, osmose hos marine organismer. I vanlig havvann er saliniteten på 35 PSU men kan variere avhengig av tilførsel av ferskvann fra land, tidevann eller nedbør, særlig i øvre vannmasser. Lite er kjent om hvordan salinitet påvirker diatomeer, noe forskning tyder på at marine arter har lav eller hemmet vekst ved lav salinitet (Cox et al, 2011).

I Oslofjorden er saliniteten på sitt høyeste med rundt 30 PSU om vinteren, mot sommeren vil den avta gradvis til 15 PSU. Saliniteten vil avta gradvis grunnet tilførsel av ferskvann som følge av økt nedbør, og smelting av is og snø i løpet av våren. Det spesielle med Oslofjorden er mangel på betydelige tilførsel av ferskvann til indre Oslofjord, selv om overflatevannet her består av et lag med brakkvann. Dette er grunnet overflatevann fra ytre Oslofjord som når indre Oslofjord fra elver som Glomma og Drammenselva.

1.3 Mål

Det finnes langtidsstudier av bentiske diatomeer, men lite av bentiske diatomeer i marine økosystemer da langtidsstudiene refererer til studier i ferskvann eller brakkvann, særlig elvemunninger (Cox et al, 2011), (Hustedt, 1955). Videre studier av bentiske diatomeer vil derfor gi økt kunnskap om artssammensetning, sesongmessig forekomst og variasjon. Det vil også være viktig å undersøke årsaker og sammenhenger mellom ulike faktorer, informasjon som kan være viktig for videre forvaltning.

Denne studiens mål var å undersøke sesongmessig variasjon og forekomst av bentiske diatomeer på sjøgress og brunalger i Oslofjorden.

Spørsmål adressert i avhandling er følgende:

- Finnes det en sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer i Sandspollen og Drøbak?
- Finnes det en kobling mellom sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og silikat, temperatur og salinitet?

2 Matriale og metoder

2.1 Prøveområde

Prøvetakning fremtrådte ved to lokaliteter, Drøbak (Biologisk Stasjon) og Sandspollen.

2.1.1 Drøbak

Drøbak er et område bestående av Drøbaksundet som finnes mellom Drøbak i Frogn og Hurum. Dette sundet danner skillet mellom indre og ytre Oslofjord og er om lag 1200 meter bredt og dermed også det smaleste punktet i Oslofjorden. Med en dybde på 20 meter danner Drøbakerskelen en grunne som reduserer vannsirkulasjon inn til indre Oslofjord (Baalsrud og Magnusson, 2002). Kystlinjene i Drøbaksundet består av svaberg og steinete kyst, ofte begrodd av marine vekster som tang og tare, særlig brunalger og rødalger. Isdannelse her er unormalt i vintermånedene da vannstrømningen igjennom sundet kan være relativt turbulent, i tillegg til jevn båtrafikk hele sesongen.

2.1.2 Sandspollen

Sandspollen er et område bestående av 4 bukter på vestsiden av Oslofjorden. Pollen er omtrent 1200 meter lang og 500 meter bred med en dybde på 10 – 15 meter. Sandspollen har kun en åpning på 100 meters bredde. Flere av buktene i Sandspollen er begrodd med ålegrassenger og det er i Kapellkilen den største finnes og hvor innsamling av prøver ble foretatt. Her dekker den ca. 31 000m² på en dybde fra 0,5 til 5,5 meter (Bøe, 2016). Vegetasjonen av *Zostera marina* er spesielt tett til 3.5 meter hvor den minker gradvis med økt dybde. Grunnet beskjedne dybde og lite turbulent vann er Sandspollen utsatt for isdannelse i vintermånedene. Ellers er området i flittig bruk i sommermånedene av både badegjester og fritidsbåter.

2.2 Feltarbeid

Prøvetakning ble gjennomført i tidsperioden oktober 2017 til september 2018, med et tilnærmet tidsintervall på en måned. I månedene desember, januar, februar og mars ble det kun gjennomført prøvetakning i Drøbak, grunnet isdannelse i Sandspollen. Feltarbeid ble utført med lettått fra Biologisk Stasjon i Drøbak.

2.2.1 Innsamling av materialet

Innsamling av materialet ble gjennomført med kasterive. Kasterive er et verktøy brukt for enklere innsamling av vannplanter og makroalger og består av to rekker med «tenner» for selve innsamlingen og 20 m line for å hale inn riven etter den er kastet i vannet. Sidene kan beveges fritt fra hovedfestet slik at riven ikke setter seg unødig fast i stein, etc. på bunn. Innsamling ble gjennomført med en person i baug av båt med kaste rive, mens fører av båt bakker rolig. Prøveområdets dybde var mellom 2 til 5 meter. Innsamling med kaste rive vil kun dekke et lite område av et habitat, men vil antas å være representativt for innsamling av mindre organismer som mikroalger. Noe innsamlet materialet ble også samlet for hånd, særlig Drøbak under vintermånedene da båt ikke var nødvendig for innsamling. Flo og fjære har også spilt inn for om det ble samlet inn for hånd eller med kaste rive under denne perioden. Innsamling av materialet i Sandspollen bestod hovedsakelig av ålegras, mens innsamling av materialet i Drøbak bestod av rekke ulike brunalger og rødalger, blæretang, sagtang, og andre typer brunalger, samt rødalger som rekeklo. Innsamlet materialet ble deretter lagt i merket flaske, tilsatt formalin for å hindre forråtnelse og transportert til laboratoriet på Universitetet i Oslo.

2.2.2 Vannparametere

Vannparametere av interesse for bentiske diatomeer ble målt, silikatnivå, temperatur og salinitet. Alle ble målt i overflatevannet ved hver lokalitet i prøvetakningsområdet. Silikat ble innsamlet ved vannprøve, frosset og senere analysert på autoanalysator. Både temperatur og salinitet ble målt *in vivo* på lokalitet med henholdsvis termometer og refraktometer.

2.3 Lab arbeid

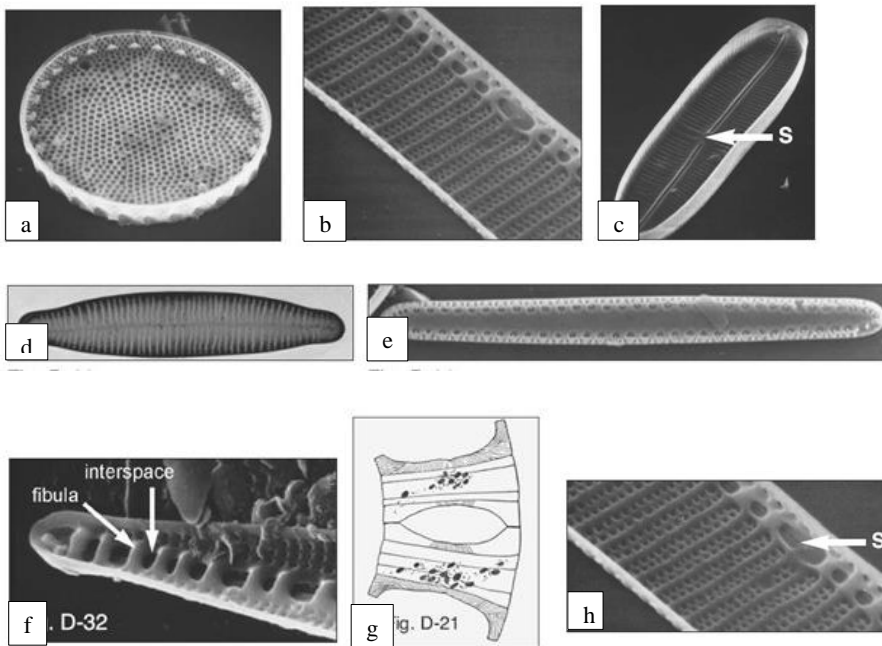
Alt laboratoriearbeid innenfor denne oppgaven ble utført på Universitetet i Oslo, Institutt for Biovitenskap.

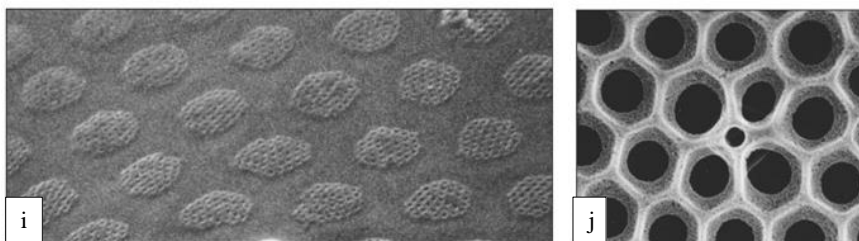
2.3.1 Lysmikroskopi

Arbeid med lysmikroskopi ble utført for identifisering av prøver fra både Sandspollen og Drøbak. Riktig sikkerhetsutstyr må brukes siden formalin fra flaskene er mildt giftig. Utvalgte prøver ble valgt og delt opp til ønsket størrelse for preparat og lagt i en blanding i 10 ml formaldehyd, 10 ml maisstivelse og 20 ml destillert vann og tilsatt 1 ml anilin (farge). Riktig størrelse på prøven er viktig siden store prøver medfører problemer med dekkglass og kan føre til uttørking av preparatet. Vannprøver og skrapeprøver fra samlet materialet ble brukt for å lage preparater tilpasset lysmikroskopi. Utvalgte preparater ble dokumentert med bilder og mål tatt med kamera tilkoblet mikroskop. Mål, antall, størrelse og plassering av ulike strukturer ble brukt, for eksempel kloroplaster. Slekt/arts bestemmelse ble gjort ved utvalgt litteratur (Thronsen et al, 2003), (Tikkanen & Willen, 1992), (Fisher, 1971) og (Fredriksen & Thronsen, 2019).

2.3.2 SEM mikroskopi

Arbeid med elektronmikroskopi (EM) ble videre brukt for identifisering av diatomeer fra prøver samlet inn. Med bruk av em mikroskopi, da spesielt Scanning Electron Microscopy (SEM) som gir data fra overflaten av et preparat og høyere oppløsning, kreves det ytterligere forberedelse av preparater. Syrerens på laboratorium ble brukt for å fjerne organisk materialet i prøvene siden det kun er kiselskallene av diatomeer som er av interesse for identifisering. Videre preparering krever forberedelse av fester for prøver på stubb og belegning med et tynt lag metall, kalt sputtring. Dette er forberedelser nødvendig for i det hele tatt å kunne ta i bruk metoder som SEM mikroskopi. Utvalgte preparater ble dokumentert med bilder tatt med kamera tilkoblet SEM mikroskopet og identifisert med morfologiske karaktertrekk slik som strukturer i kiselskall. Unike strukturer hos kiselalger slik som ribbe, fibula, sternum, horn, rafe, etc. ble særlig vektlagt for identifisering av diatome slekter. Slegt/arts bestemmelse ble gjort ved utvalgt litteratur og konsultasjon hos Adil Al-Handal, Universitetet i Gøteborg.





Figur 1. a, b) RIBBE, uperforert forkislet parti mellom 2 striper. c) RAFE, lengdespalte gjennom valva hos pennate diatomeer. d, e) STERNUM, pseudorafe, hyalint felt langs apikalaksen. Langs rafen hos diatomeer med rafe. f) FIBULA, kiselbro, de solide delene av rafekanalene mot cellens indre. g) HORN, utvekst «opp» fra valva, dvs. perivalvaaksens retning. h) SENTRALKNUTE, kompakt kisel som deler rafen i to deler. i, j) AREOL, åpning i kiselskallet lukket med en perforert plate på den ene siden av veggen og med en større eller mindre sirkulær åpning på den andre siden (Thronsen et al, 2003).

3 Resultater

3.1 Taksonomisk oversikt

Følgende liste består av den taksonomiske oversikten over slekter og arter av diatomeer som er blitt identifisert. Dette er gjennomført med i hovedsak på morfologisk analyse av unike trekk og strukturer for hver slekt, særlig vektlagt kiselskall som er unikt for diatomeer. Oversikten inneholder også en generell beskrivelse av hver slekt med henvisning til relevant litteratur. Alle mål på lysmikroskopibilder er minimum og maksimumavstand mellom apikalaksene. Nomenklatur følger AlgaeBase august 2019.

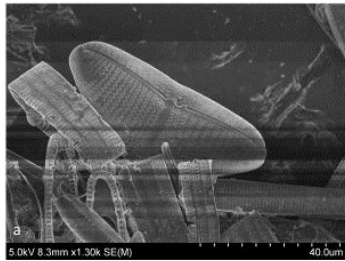
Rekke Bacillariophyta

Klasse Bacillariophyceae

Orden Achnanthes

Familie Achnantheaceae

Achnanthes (Grunow). Svakt bøyd celle, ofte i tette kjeder. Et valva med rafe og et uten eller med spalter. Hvilesporer kraftig forkislet. Vanlig i arktiske områder, 10 – 40 μm .



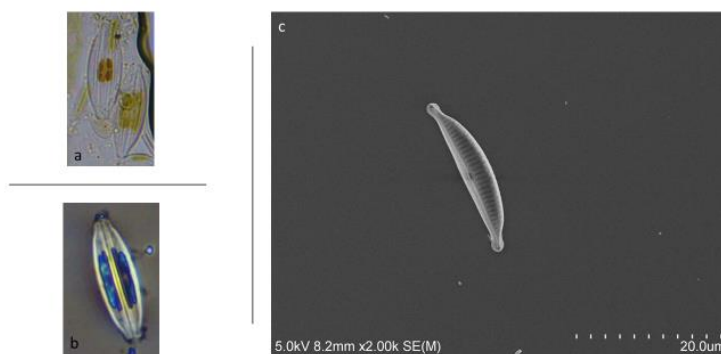
Figur 2. *Achnanthes*. a) I SEM, tvdelig rafe.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Thalassiophysales

Familie Catenulaceae

Amphora (Ehrenberg). Elliptiske, enslige celler med dorsiventrale frustuler. En kloroplast per celle vent mot ventral side av belte. Planktonisk eller festet til underlag via ventral side. 10 – 90 μm.



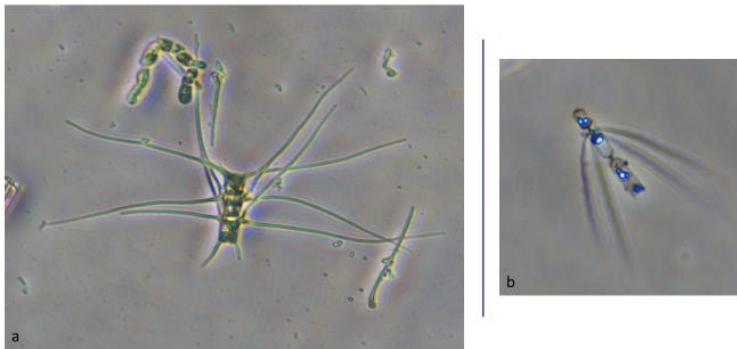
Figur 3. *Amphora*. a) I lysmikroskop med tydelig kloroplaster. b) Med fasekontrast, tydelig elliptisk form c) I SEM, dorsiventral frustule.

Klasse Mediophyceae

Orden Chaetocerotales

Familie Chaetocerotaceae

Chaetoceros (Ehrenberg). En av de aller mest artsrike slektene av diatomeer med mange små kloroplaster. Store og kraftige former med tykke børster og tydelige pigger. Marin planktonisk slekt, 2 – 85 μm . Disse har sannsynligvis sunket ut fra pelagialen da dette ikke er en bentisk slekt.



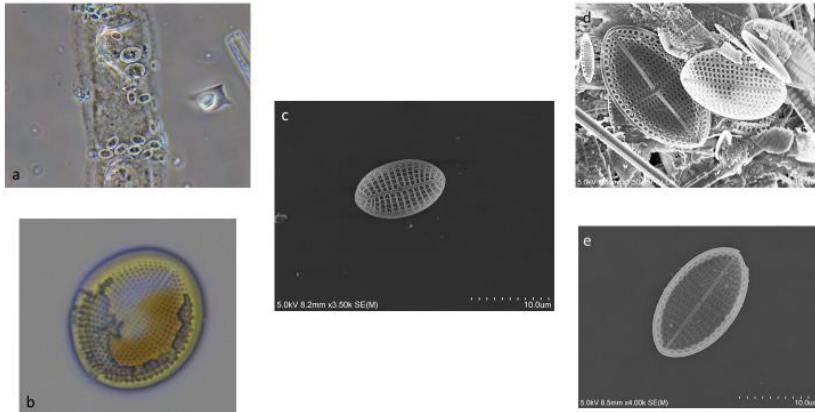
Figur 4. *Chaetoceros*. a) I lysmikroskop med tydelige pigger. b) I fasekontrast, kloroplaster tydelig.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Cocconeidales

Familie Cocconeidaceae

Cocconeis (Ehrenberg). Elliptiske, nesten sirkulære celler med kraftig ornamentering uten rafe, men med sternum. Enslige celler tilpasset epifyttisk livsløp både på planter, alger, substrat som stein og sand, samt dyr. Meget tallrik, 10 – 70 μm .



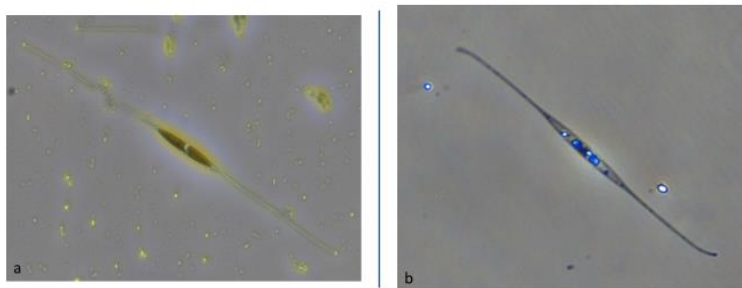
Figur 5. *Cocconeis*. a) Klynge med *Cocconeis*. b) Med fasekontrast, klar ornamentering i kiselskall. c) I SEM, kiselskall med sternum. d) Ulike arter med *Cocconeis*. e) Tvedelig strukturer i kiselskall.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Bacillariales

Familie Bacillariaceae

Cylindrotheca (Ehrenberg) Lewin & Reimann. Sylindriske, svakt forkislede celler med uttrukne ender, horn. To kloroplaster i den utvidede delen av celle, marin, gjerne i mudder, men også som plankton eller epifytt. Kan være tallrik, 30 – 400 μm .



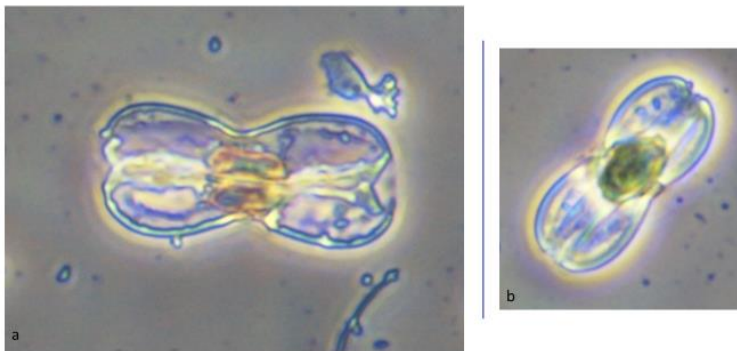
Figur 6. *Cylindrotheca*. a) I lysmikroskop, uttrukne ender, horn. b) I fasekontrast med kloroplaster.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Surirellales

Familie Entomoneidaceae

Entomoneis (Ehrenberg). Enslige celler med todelt kjøl, hevet over valva, sigmoid rafe med flere belter. Vanlig marin bentisk og planktonisk slekt, 30 – 130 μm .



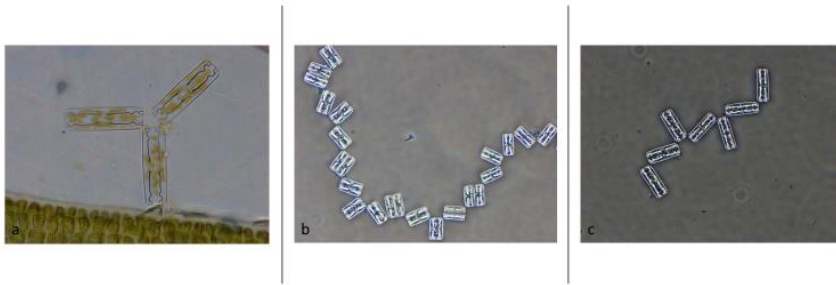
Figur 7. *Entomoneis*. a) I lysmikroskopi, sløyfeformet valva. b) Tydelig kloroplast.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Rhabdonematales

Familie Grammatophoraceae

Grammatophora (Lyngbye) Kutzing. Marin, ofte lange kjededannede kolonier, 10 – 40 μm .



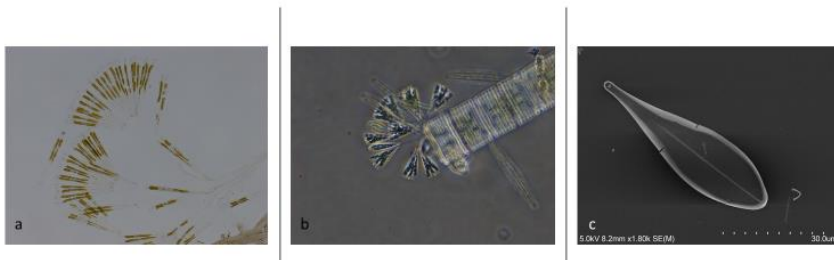
Figur 8. *Grammatophora*. a) I lysmikroskopi med kloroplaster. b) c) I lysmikroskopi med fasekontrast, kjededannende celler.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Licmophorales

Familie Licmophoraceae

Licmophora (C.A. Agardh) Marin, epifyttisk slekt, festet til substrat for stabilitet. Triangulær form ofte i vifter sentrert rundt en slimstilk. Ofte tallrike, 20 – 60 μm .



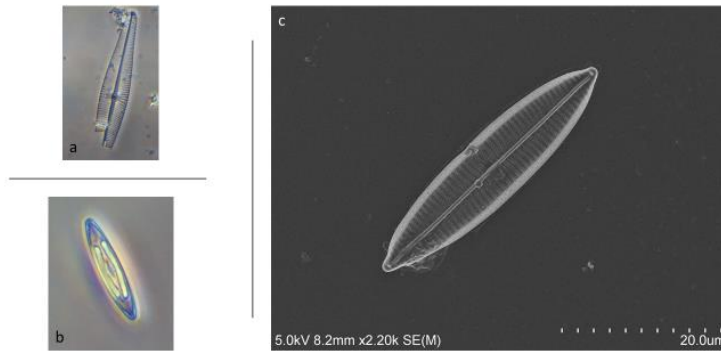
Figur 9. *Licmophora*. a) I lysmikroskopi, vifteformet koloni. b) I lysmikroskopi med fasekontrast, *Rhabdonema* som substrat. c) I SEM, tydelig struktur i

Klasse Bacillariophyceae

Orden Naviculales

Familie Naviculaceae

Navicula (Grunow). Avlange enslige celler med sentralrafe på begge valva, adskilt av en sentralknute. To kloroplaster adskilt av rafen med parallelle striper over hele valva. Fastsittende, 10 – 70 μm .



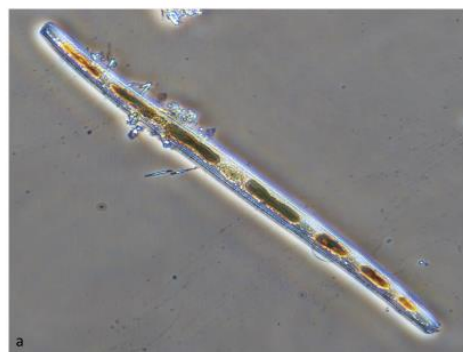
Figur 10. *Navicula*. a) I lysmikroskopi med tydelig sentralrafe og parallelle striper. b) I lysmikroskopi, kloroplaster. c) I SEM, med

Klasse Bacillariophyceae

Orden Bacillariales

Familie Bacillariaceae

Nitzschia (Hassall). Celler med eksentrisk rafe, en slekt med mange størrelser, fra store til små celler. Vanlig marin slekt, veldig artsrik. Kan være meget vanskelig å identifisere, 5 – 375 μm .



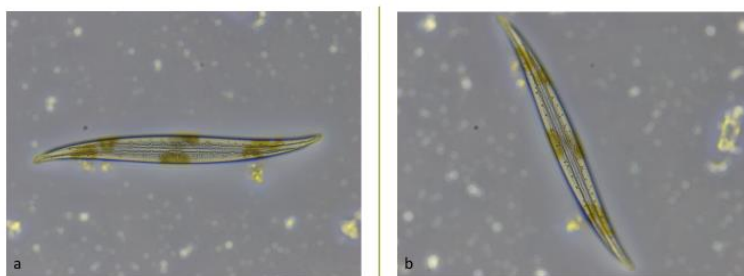
Figur 11. *Nitzschia*. a) I lysmikroskopi, kloroplaster med pyrenoider.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Naviculales

Familie Pleurosigmataceae

Pleurosigma (W.Smith). Celler med sigmoide valva og noe sigmoid rafe. Valva med tverrgående striper og kloroplaster med mange pyrenoider mot skallflate. Forekommer i kystplankton og bentisk, 90 – 220 μm .



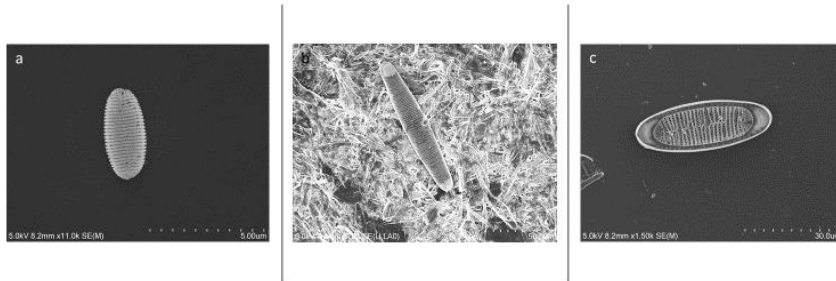
Figur 12. *Pleurosigma*. a) I lysmikroskop, sigmoid valva. b) Sigmoid rafe og kloroplaster.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Fragilariales

Familie Fragilariaceae

Pteroncola (R.W. Holmes & D.A. Croll). Uvanlig i forekomst, enslige celler med striper som folder og et smalt, så vidt synlig sternum. Epifyttisk, 5 – 50 μm .



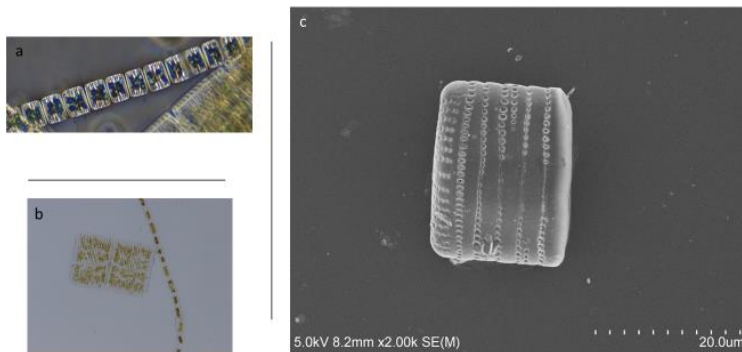
Figur 13. *Pteroncola*. a) Tydelige folder. b) I SEM, stripet overflate. c) Forside av valva med smalt sternum.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Rhabdonematales

Familie Rhabdonemataceae

Rhabdonema (Lyngbye). Celler med mellombånd med transapikale eller apikale septa, flere eller enkle. Skall bredt lansettformede eller lineær elliptiske. Ofte kjedeformede, 10 – 150 μm .



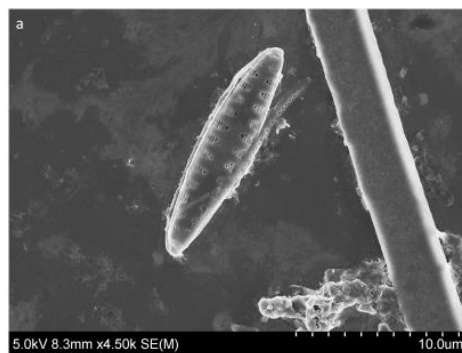
Figur 14. *Rhabdonema*. a) Med fasekontrast, kjede av celler. b) I lysmikroskop, ulik cellestørrelse. c) I SEM, med tydelige bånd.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Fragilariales

Familie Staurosiraceae

Staurosira (Ehrenberg). Celler med smal stripe, sammensatt av en rund og liten areol. 5 – 25 μm .



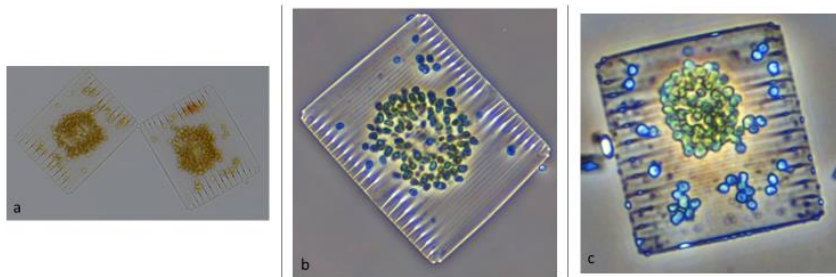
Figur 15. *Staurosira*. a) I SEM, små areoler på enden av cellen.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Striatellales

Familie Striatellaceae

Striatella unipunctata (Lyngbye) C.A. Agardh. Fra båndside, ofte båndformede kolonier med ovale kloroplaster sentrert i kjernen av kiselalgen. Rektangulære celler med flere bånd med septa som ses som klare linjer inn fra cellekanten. Fra skallside, smalt båtformet valva med tydelige porefelter som ser ut som avkuttete hjørner fra båndside. Festet til underlag med slimstilk fra porefelt, men ofte løsrevet fra substrat og finnes derfor som plankton, 35 – 125 μm .



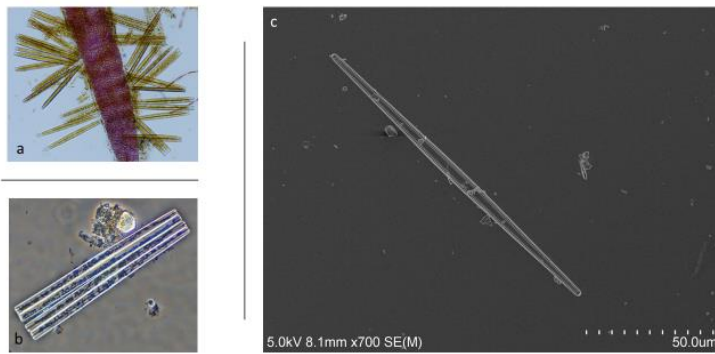
Figur 16. *Striatella unipunctata*. a) I lysmikroskopi, sentrerte kloroplaster. b) Fra båndside. c) I lysmikroskopi med fasekontrast, tydelige septa.

Klasse Bacillariophyceae

Orden Licmophorales

Familie Ulnariaceae

Tabularia (C.A. Agardh). Lansettformede-lineære celle, bredt aksial område med varierende bredde. Ikke tydelig sentralt område, 35 – 100 μm .



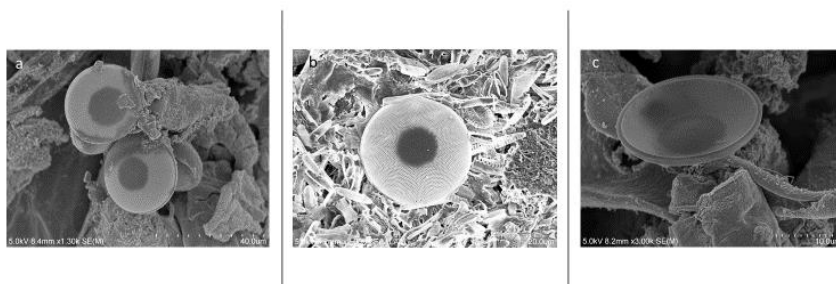
Figur 17. *Tabularia*. a) I Lysmikroskopi, begrodd rørdalge. b) Med fasekontrast, tydelige kloroplaster. c) I SEM, lansettformet celle.

Klasse Coscinodiscophyceae

Orden Melosirales

Familie Hyalodiscaceae

Hyalodiscus (Ehrenberg). Linseformede celler, ofte i par. Sfærisk valva med et flatt sentralpunkt og areoler med porer. Vanlig marin slekt, festet epifyttisk med slimputer på vegetasjon eller ufestet på sediment.



Figur 18. *Hyalodiscus*. a) I SEM, celler i par. b) Sfærisk valva med sentralpunkt. c) Linseformet valva.

Klasse Coscinodiscophyceae

Orden Melosirales

Familie Melosiraceae

Melosira moniliformes (Muller) C.A. Agardh. Hovedsakelig marin, ikke planktonisk slekt. Vanlig i kystplankton løsevev fra underlag. Små, plateformede kloroplaster nær cellevegg med brede celler og avflatet valva. Diameter 25 – 70 μm .



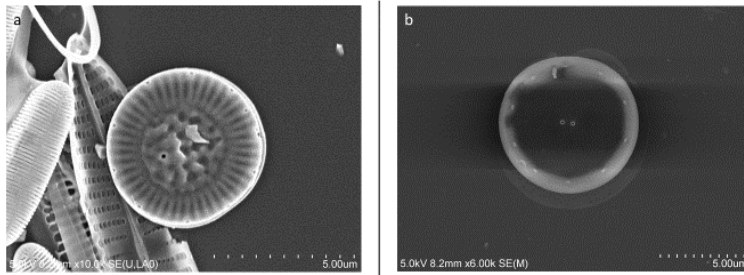
Figur 19. *Melosira moniliformes*. a) I lysmikroskopi, med kloroplaster. b) I SEM, valva av en celle. c) I SEM med tydelig krage.

Kasse Mediophyceae

Orden Stephanodiscales

Familie Stephanodisceaceae

Cyclotella (Kützing). Celler med bølget overflate i valva, kornet midtfelt med avstivede prosesser. Vanlig i brakkvann, men også norske fjorder, opptrer mest som enkeltceller, men kan forekomme som kjeder på 5 – 10 celler. 3 – 10 μm .



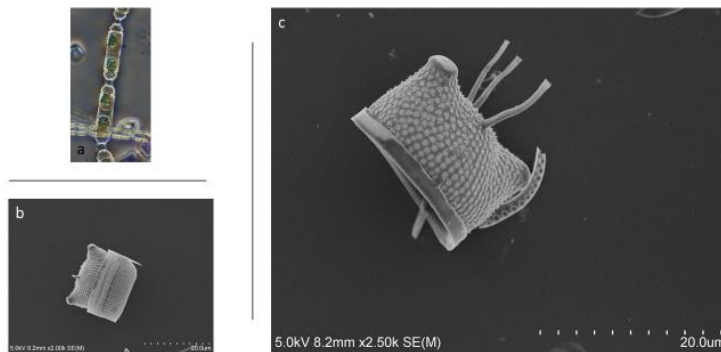
Figur 20. *Cyclotella*. a) Bølget overflate. b) I SEM, kornet midtfelt.

Klasse Mediophyceae

Orden Eupodiscales

Familie Odontellaceae

Odontella (Lyngbye) C.A. Agardh. Celler med horn, med perforert topplate. Kjededannende med mange små kloroplaster. Elliptisk eller lansettformet valva. Marin bentisk, kan finnes i planktontrekk, 10 – 100 µm.



Figur 21. *Odontella*. a) I lysmikroskopi, celler i kjeder. b) I SEM, tydelig valva. c) Tydelige horn.

3.2 Sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer

Totalt 20 slekter av diatomeer ble identifisert fra de to lokalitetene under denne undersøkelsen (Tabell 1). Noen alger ble også vanskelig å identifisere da det viste seg å være mangelfull eller ufullstendig informasjon til bruk i klassifikasjon. Diversiteten av bentiske diatomeer var høyere i Drøbak enn i Sandspollen. De fleste slektene ble funnet i Drøbak (Tabell 1). Noen måneder ble det funnet bare en slekt fra Sandspollen (*Cocconeis*).

Tabell 1. Oversikt over sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer. D = Drøbak, S = Sandspollen. Data for Sandspollen mangler i månedene desember, januar, februar og mars grunnet isdannelse.

	Januar 16.01.18	Februar 12.02.18	Mars 14.03.18	April 19.04.18	Mai 22.05.18	Juni 27.06.18	Juli 19.07.18	August 13.08.18	September 20.09.18	Oktober 10.10.17	November 14.11.17	Desember 11.12.17
Bacillariophyceae												
<i>Achnanthes</i> sp.											S	
<i>Amphora</i> sp.	D		D									D
<i>Chaetoceros</i> sp.					D				D			
<i>Cocconeis</i> sp.	D	D	D	D, S	D, S	D, S	D, S	D, S	D, S		D, S	D
<i>Cylindrotheca</i> sp.				S	D, S	D		S	D		S	
<i>Entomoneis</i> sp.				S	S							
<i>Grammatophora</i> sp.	D	D	D	D	D			D		D	D	D
<i>Licmophora</i> sp.	D		D	D	D	D	D	D	D, S	D, S		D
<i>Navicula</i> sp.	D	D	D	D, S	S	D	D	D, S	D, S		D, S	
<i>Nitzschia</i> sp.								S				
<i>Pleurosigma</i> sp.						D					S	
<i>Pteroncola</i> sp.		D	D	S			D				S	
<i>Rhabdonema</i> sp.	D	D	D	D	D, S	D	D	D	D	D	D, S	D
<i>Staurisira</i> sp.											S	
<i>Striatella unipunctata</i>	D		D	D	D, S			D	D	D	D	D
<i>Tabularia</i> sp.	D	D	D	D, S	D, S	D			D, S	D	D, S	D
Coccinodiscophyceae												
<i>Hyalodiscus</i> sp.				D		D		D	D, S		S	D
<i>Melosira moniliformes</i>	D		D	D		D				D	D	D
Mediophyceae												
<i>Cyclotella</i> sp.				D					D			
<i>Odontella</i> sp.			D	D							S	

Commented [Stein Fre1]: Se kommentar helt i starten på resultater
Latinske navn må stå i kursiv.

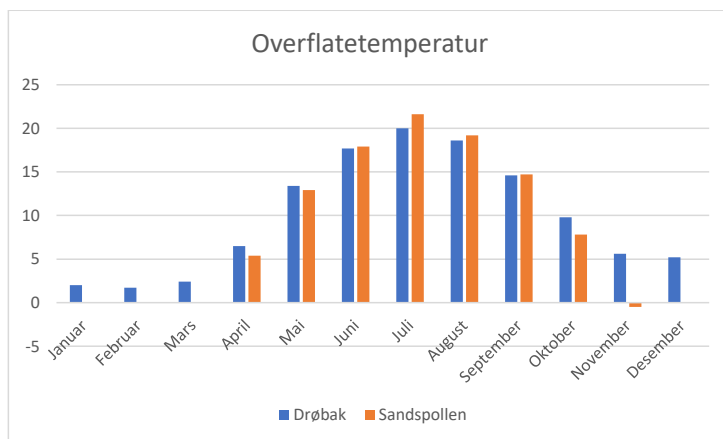
3.3 Silikat, temperatur og salinitet

Målte silikatnivåer viser jevn stigning i vintermånedene frem til vårmånedene hvor algeoppblomstringen forekommer. I sommermånedene synker silikatnivået før det igjen stiger noe i høstmånedene. Målt silikat for juli viser unormalt høye verdier og medregnes ikke på grunn av feil.

Tabell 2. Oversikt over sesongmessig variasjon i Silikat og andre næringsstoffer (Total N og total P). Verdier for juli unormalt høye, mulig feilkilde.

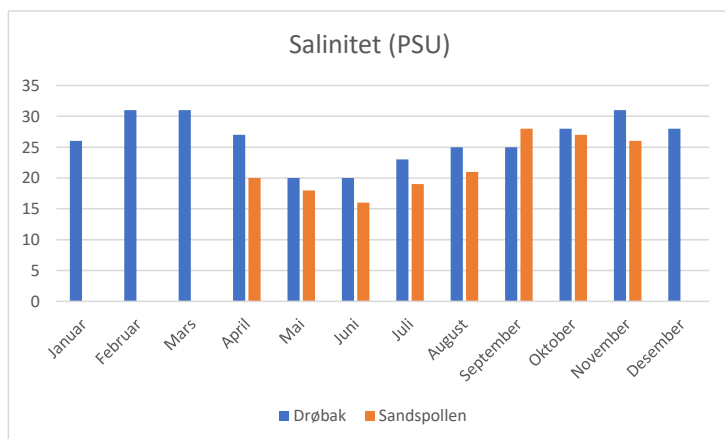
Drøbak				
Prøve nr.		Silikat mg/L	Total-N mg/L	TOT-P µg/L
1	10/10/2017	0.51	0.66	3
2	11/14/2017	1.06	0.47	18
3	12/11/2017	1.40	0.80	107
4	1/16/2018	1.05	0.40	30
5	2/12/2018	1.32	0.71	5
6	3/14/2018	0.98	1.15	18
7	4/19/2018	0.80	0.59	25
8	5/22/2018	1.15	0.58	30
9	6/27/2018	0.54	0.37	3
10	7/19/2018	>5,0	2.56	2000
11	8/13/2018	0.65	0.68	20
12	9/20/2018	0.76	0.37	20
Sandspollen				
Prøve nr.		Silikat mg/L	Total-N mg/L	TOT-P µg/L
1	10/10/2017	0.83	0.40	20
2	11/14/2017	1.85	0.86	150
3	4/19/2018	0.78	0.57	15
4	5/22/2018	1.03	0.65	30
5	6/27/2018	0.58	0.40	5
6	7/19/2018	>5,0	2.84	2000
7	8/13/2018	0.64	0.71	15
8	9/20/2018	0.91	0.77	30

Under denne studien varierte temperatur mellom -0.5 til 21.6 °C (Figur 21). Målt temperatur ble foretatt i vannoverflaten. Gradvis økning i temperatur frem til høyeste målte temperatur i juli (Figur 21). Målte temperaturer generelt høyere i Drøbak enn i Sandspollen, bortsett fra i sommermånedene. Lavest og høyest temperatur ble derimot målt i Sandspollen.



Figur 22. Målt temperatur ved prøvetaking i vannoverflaten i Drøbak og Sandspollen.

Målt salinitet sank fra februar og til og med juni i vannoverflaten på begge lokaliteter. Målt salinitet også her generelt høyere i Drøbak enn i Sandspollen (Figur 22). Størst forskjell i salinitet i april.



Figur 23. Målt salinitet ved prøvetakning i vannoverflate i Drøbak og Sandspollen.

Ved å gjøre en enkel korrelasjonsanalyse mellom antall arter funnet til de forskjellige datoer og mengden silikat funnet i Drøbak finner man at det ikke er noen sammenheng mellom de to (Pearson korrelasjons koeffisient 0,15). Silikatverdier fra juli er utelukket fra analysen grunnet mistenkelige høye verdier. Tilsvarende koeffisienter for salinitet og temperatur er 0,03 og -0,28, altså ingen korrelasjon. Denne analysen er kun utført for data fra Drøbak da det er få analysepunkter fra Sandspollen grunnet islegging om vinteren.

4 Diskusjon

Denne studien vil belyse a) sesongmessig variasjon av forekomst av bentiske diatomeer, b) sesongmessig variasjon av bentiske diatomeer med kobling til vannparametere som silikat, temperatur og salinitet, og c) Resultatene verdi og videre forvaltning.

4.1 Sesongmessig variasjon av forekomst

Dette studiet er det eneste som omfatter en undersøkelse av sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer i marine habitater som ålegras og brunalger i indre Oslofjord. Forskjellige slekter av diatomeer dominerte under perioden hvor studien fant sted med tanke på månedsintervall (Tabell 1). Tilstedeværelse av få slekter skyldes trolig høy konkurranse om begrensede ressurser, særlig før og etter våroppblomstringen i samme tidsrom (Kristiansen et al, 2001). Forekomst av bentiske diatomeer i Drøbak og Sandspollen varierer også til ulike tidspunkt på året. Eksempler på ulikheter mellom lokalitetene er for eksempel at det ble funnet slekter som *Melosira*, *Grammatophora* kun i Drøbak, mens slekter som *Achnanthes*, *Nitzschia* og *Entomonies* ble kun funnet i Sandspollen (Tabell 1). Derimot kan funn av slekter som *Achnanthes* og *Nitzschia* vurderes om er representative for lokaliteten da det kun ble funnet et eneste eksemplar av hver slekt. Alle slekter kun funnet i Drøbak ble registrert ved mer enn en anledning, ofte titalls eksemplarer ved hver måned.

Sesongmessig variasjon av forekomst ble også registrert. I periode mars og april var forekomsten av ulike slekter høy på begge lokaliteter i korrelasjon med våroppblomstringen. I periode juni var forekomsten av ulike slekter lavest, da det trolig er lite tilgjengelige ressurser som silikat og N og P etter sesongens oppblomstring (Tabell 2). Registrerte forekomster generelt høyere i Drøbak enn i Sandspollen da dette trolig er grunnet valg av substrat. Data tyder på at bentiske diatomeer foretrekker brun- og rødalger som substrat fremfor ålegras. Ålegras har relativ raskt vekst og turnover av blad noe som kan medføre vanskelig miljø for vekst for bentiske diatomeer. Om sommeren kan bladene ha en turnover-rate på bare 3 – 4 uker før de faller av. Brunalger er generelt preget av sesongmessig vekst og mer stabile forhold som muliggjør vekst av bentiske diatomeer som epifytter da brunalger som tangarter er flerårige.

Bunnforhold knyttet til substrat spiller sannsynligvis også inn, da ålegras foretrekker mudder eller sandbunn, og brunalger svaberg og steinete kyst. Bentiske diatomeer kan påvirkes av bunnforhold og partikler i sjøvann da de er avhengige av lys for vekst (Mitbavkar & Anil, 2001). Andre faktorer som turbulent vann, næringstilgjengelighet, salinitet og temperatur utgjør også en viktig faktor. Høy forekomst av slekter også registrert i perioden november, særlig Sandspollen, noe som sammenfaller med at det er registret høyere verdier for silikat i denne perioden (Tabell 2); se også 4.2. Trolig er økt tilførsel av silikat som følge av økt avrenning fra land eventuelt i kombinasjon med en omrøring av vannmassene i denne perioden.

Høyest forekomst som dominerte prøvene var slekten *Cocconeis*, denne slekten var desidert størst i forekomst på begge lokaliteter og registrert på alle prøvetakninger, bortsett fra i oktober. Slektene *Navicula* og *Rhabdonema* ble også hyppig registrert, men forekom hovedsakelig i Drøbak. Da det ikke finnes data for bentiske diatomeer fra Drøbak og Sandspollen fra tidligere undersøkelser, er det ikke mulig å sammenligne sesongmessig variasjon over en lengre tidsperiode fra prøvetakningsområdet. Dermed kan man ikke utelukke at det andre år kan være andre arter og slekter som vil dominere.

4.2 Relevans av silikat, temperatur og salinitet

Registrert mengde av silikat var høyest i Drøbak, med unntak av månedene oktober og november som hadde høyere verdier i Sandspollen (Tabell 2). Verdier for juli var unormalt høye, noe som tolkes som en mulig feil i målingene. Sesongmessig variasjon av forekomst i bentiske diatomeer samsvarer med registrerte målinger av silikat, spesielt med tanke på våroppblomstringen av diatomeer som i stor grad vil tømme vannmassene for silikat. Høyeste nivåer av silikat ble målt i vintermånedene desember, januar og februar. Forventet forsinkelse gir derfor høyest forekomst av diatomeer i mars og april da algene bruker noe tid før populasjonen av fyttoplankton øker raskt. Laveste verdier av silikat ble funnet i måneden juni, som også bekreftes av minst forekomst av diatomeer i påfølgende måned juli. Andre studier (Kristiansen et al. 2001) har vist at i Oslofjorden kan silikat være sterkt redusert eller oppbrukt som følge av våroppblomstringen av fyttoplankton. Silikat kan derfor være en faktor

som kan bidra til å forklare sesongmessige variasjoner i forekomst også av bentiske diatomeer.

Variasjon i forekomst av bentiske diatomeer viser liten eller ingen grad samsvar med variasjon i temperatur. Data viser lavest variasjon i forekomst av bentiske diatomeer når temperaturen er høyest, men dette er trolig grunnet silikatmangel og ikke høye temperaturer. Registrert temperatur varierer lite mellom juli og månedene juni og august, mens variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og silikat varierer mer under denne perioden. Temperatur kan imidlertid påvirke primærproduksjon, og andre studier (Colijn & Van Buurt, 1975) henviser til at primærproduksjon fungerer optimalt med en temperatur på 4 – 20 C°, produksjon økt med 10%/C°. Registrerte temperaturer under dette studiet varierte fra – 0.5 til 21.6 C°, men uten kvantitative data er det ikke mulig å stadfeste en korrelasjon mellom variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og temperatur.

Salinitet viste heller ikke noe samsvar med variasjon til forekomst av bentiske diatomeer. Saliniteten er lavest i løpet av sommermånedene, trolig på grunn av et lag med ferskvann på vannoverflaten, der prøvetakning ble foretatt (Figur 22). Dette forekommer under forhold med lite utskifning av vannmasser og rolige værforhold. Sommeren 2018 var typisk med solskinnsdager og høye temperaturer, (Statistikk yr, juni 2018) noe som kan forklare stratifiseringen av overflatevannet i Oslofjorden. Salinitet har vist å påvirke vekst hos noen diatomeer, særlig marine slekter med visse krav til salinitet. Dersom det forekommer lav PSU, brakkvann eller ferskvann hemmes vekst hos marine alger (Cox et al, 2011).

Mange av diatomeslektene funnet virker å være tolerante for faktorer som temperatur og/eller salinitet med lite/ingen påvirkning av slike faktorer. Dette kan derfor være årsaken til liten eller ingen korrelasjon mellom variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og temperatur og/eller salinitet. På grunn av isdannelse i Sandspollen var det ikke mulig å registrere silikat, temperatur eller salinitet i vintermånedene desember, januar, februar og mars.

4.3 Resultatene verdi og videre forvaltning

I løpet av dette studiet ble verktøy som kasterive benyttet. Innsamlingen vil derfor kun dekke et lite område av et habitat, men antas å være representativ som data grunnet mikroalgenes størrelse. Studieperioden foregikk over et år med prøvetakning gjennom alle sesonger med to prøvetakningsområder. Dette betyr at flere studier over lengre tidsperioder er ønskelig for å kunne fortelle noe om sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer i habitater som ålegrasenger og bentiske makroalger i Oslofjorden. Videre studier av sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer kan derfor gi informasjon om kystsonens habitater og dets betydning for diatomeer. Dette er tidkrevende arbeid, særlig med flere og større prøvetakningsområder, men viktig for å få et overblikk over bentiske diatomeers tilstedeværelse.

5 Konklusjon

Dette studiet viser sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer som epifytter på ålegras i Sandspollen og makroalger i Drøbak. Forekomst av bentiske diatomeer var høyest i vårmånedene, med flest diatomeslekter funnet i april. Dette er i samsvar med variasjon av silikat, og lignende studier av diatomeer fra andre tempererte lokaliteter i Skandinavia og Europa. Det ble ikke funnet noen korrelasjon mellom sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og temperatur og/eller salinitet. Dette begrunnet med at mange av diatomeslektene registrert, virker å ha høy toleranse for variasjon i faktorer som temperatur og/eller salinitet. Det ble funnet en korrelasjon mellom sesongmessig variasjon i forekomst av bentiske diatomeer og silikat, noe som indikerer silikatets viktighet for diatomeer og marine økosystemer. Ytterligere forskning og undersøkelse er viktig for å kunne finne årsaker til sesongmessige variasjoner. Fremtidige studier bør forekomme over lengre tidsperioder, samt over flere og større prøvetakningsområder med ulike marine økosystemer og habitater. Disse studiene er vesentlige for å forstå samspill i marine økosystemer som endrer seg, mulig som følge av økt menneskelig påvirkning. Kunnskap om sesongmessig variasjon i bentiske diatomeer vil derfor også bidra til riktig forvaltning av marine økosystemer som ålegrasenger og algebevokst kyst.

Litteraturliste

Baalsrud K & Magnusson J (2002). Indre Oslofjord: natur og miljø, Oslo, Fagrådet for vann- og avløpsteknisk samarbeid i indre Oslofjord.

Bøe M (2016). Sesongvariasjon i fiskefauna i to ålegrasenger i indre Oslofjord, en strandnotundersøkelse i Sandspollen og Sætrepollen. 85 S. Master i Biologi, seksjon for akvatisk biologi og toksikologi, institutt for Biovitenskap Universitetet i Oslo.

Colijn F & Van Buurt G (1975). Influence on light and temperature on the photosynthetic rate of marine benthic diatoms. *Marine biology* 31(3), 209 – 214.

Cox E, Troboja R, Rovira L, Mann D (2011). Effects of salinity on growth and on valve morphology of five estuarine diatoms. *Phycological research* 59(2), 83 – 90.

Detaljert statistikk sommer 2018, www.yr.no

Egge J & Aksnes D (1992). Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition. *Marine ecology progress series* 83, 281 – 289.

Fischer G (1971). Algenflora der Ostsee I benthos. (Blau, grün, braun und rotalgen) 419 S.

Fredriksen S & Throndsen J (2019). BIO2220 Akvatisk biomangfold, Alger kompendium. 67 S. Institutt for Biovitenskap Universitetet i Oslo.

Gade H (1968). Horizontal and vertical exchanges and diffusion in the water masses of the Oslo fjord. *Helgolander, wissenschaftliche Meerensuntersuchungen*, 17(1), 562 – 475.

Guiry M & Guiry G (2016). Algeabase, www.algaebase.org

Hoek C, Mann D, Jahns H, (1995). Algae, an introduction to phycology. 168 S. *Cambridge university press*.

Hustedt F (1955). Duke university marine station, bulletin no. 6, Marine littoral diatoms of Beaufort, North Carolina. 67 S. Durham, North Carolina, *Duke university press*.

Kristiansen S, Farbrot T, Naustvoll L (2001). Spring bloom nutrient dynamics in the Oslofjord. *Marine ecology progress series* 219, 41 – 49.

Larkum A, Orth R, Duarte C (2006). Seagrasses: Biology, ecology and conservation. Dordrecht, Nederland, Springer.

Mitbavkar S & Anil A (2001). Diatoms of the microphytobenthic community: population structure in a tropical intertidal sandflat. *Marine biology* 140(1), 41 – 57.

Orth R, Carruthers T, Dennison W, Duarte C, Fourqurean J, Heck K, Hughes A, Kendrick G, Kenworthy W, Olyarnik S, Short F, Waycott M, Williams S (2006). A global crisis for seagrass ecosystems. *Bioscience*, 56(12), 987 -996.

Silberberger M (2012). The influence of mechanical habitat disturbance on the infauna og *Zostera marina*. L meadows. Master thesis, Department of Biology, Program for Marine Biology, Universitetet i Oslo.

Smol P & Stoermer E (2010). The diatoms: Application for the environmental and earth sciences, 2 edition. 667 S. *Cambridge university press*.

Thronsen J & Eikrem W (2010). Marine mikroorganismer i sand. 185 S. Almater forlag.

Thronsen J, Hasle G, Tangen K (2003). Norsk Kystplanktonflora. 341 S. Almater forlag.

Tikkanen T & Willen T (1992). Væxtplanktonflora. 280 S. *Forfattarne och naturvårdsverket*.

Wasmund N, Nausch G, Feistel R (2013). Silicate consumption: an indicator for long – term trends in spring diatom development in the Baltic Sea. *Journal of plankton research* 35(2), 393 – 406.

Appendiks. Protokoller

Light microscopy

Work in exhaust with gloves when opening bottles with samples (Since the samples contain formalin which are slightly toxic). Remove selected sample substrate from bottle and cut it into desired sizes for glass slides. (To thick samples will make it more difficult to put on coverslip or the sample can dry out due to direct exposure to air). Cutting, scraping of substrate or water from the substrate bottle are several ways to find required specimens for light microscopy. Spend some time looking through the glass slide to find the desired samples of diatoms regarding species, size, numbers or composition. If needed change to phase contrast to get a different view. Save the samples that you want to keep. Glass slides with selected samples will be documented through photographs and measurements taken with a camera attached to the light microscope. The glass slides with samples will last for ever since they are fixed in solution for making permanent slides, a fixative with 10 % formaldehyde, corn starch distilled water and dye.

Acid cleaning

Day 1:

- 1) Work in exhaust with gloves and lab coat.
- 2) 100 ml Erlenmeyer flask with narrow neck, marked with test nr.
- 3) Add 10 ml algal culture. (Use fresh cultures). If cultures with formalin are being used proper washing procedures must followed:

Purification procedure for samples fixed in formalin or lugol:

Fixed algal samples on 50 ml tubes are transferred to sample tubes marked with nr. Add distilled water so that the volume is equal in each sample tube and centrifuge 4000 rpm, 10 min.

One sample tube for each sample, remove the supernatant liquid to where the sample tube narrows. Always take a new pipette for each sample, the same pipettes will be used later for the same samples. Add distilled water so that the volume is equal in each sample tube and repeat.

- 1) Purification I: Centrifuge for 10 min, 4000 rpm, remove the supernatant liquid and add distilled water.
- 2) Purification II: Centrifuge again for 10 min, 4000 rpm, remove the supernatant liquid and add distilled water.

- 3) Purification III: Centrifuge again for 7 min, 4000 rpm, remove the supernatant liquid and add distilled water.

Samples are then transferred to 100 ml Erlenmeyer flasks with narrow neck, marked with nr. Use the pipette to absorb all of the sample. Cover the top of the flasks with parafilm or tin foil after added solutions.

- 4) Add 2 ml 30 % H₂SO₄ to each of the samples in the 100 ml Erlenmeyer flasks.
- 5) Add 10 ml saturated KMnO₄ to each of the samples.
- 6) Remain idle for 24 hours. Shake several times during this time.

Day 2:

- 1) Add 2 ml COOH₂ to the 100 ml Erlenmeyer flasks with algal sample. The sample will begin to fizz and bubble. Add another 3 ml to the samples. The samples should become clear, shake the samples so that it mixes well. Some samples may require more, do not add more than that the samples become clear or 10 ml.
- 2) If not dissolved the samples can be heated carefully for 5 min at 100 C.
- 3) Add 5 ml sample in each sample tube. Centrifugation. 4000 Rpm, 22 C, 5 min. Remove supernatant liquid to where sample tube narrows.
- 4) Repeat step 4 until the Erlenmeyer flask with sample is empty.
- 5) Purification with water four times. Add distilled water. Centrifugation. Rpm 4000, 22 C, 5 min. Remove supernatant liquid to where the sample tube narrows.
- 6) When water purification is done four times, samples are ready for light microscopy or electron microscopy.
- 7) The samples should be looked at in microscope to be assured that it is clean, can be done now or before purification. If not clean you have to start at point 5 at day 1 with the adding of saturated KMnO₄.

Equipment and solutions

Solutions:

- 1) 30 % Sulfuric acid. 1 Liter
Fill 685 ml distilled water in a 1 liter flask or bottle. Add 315 ml concentrated H₂SO₄ sulfuric acid (99,99%) carefully. Remember acid in water.
- 2) Potassium permanganate, KMnO₄, saturated solution
Mw: 158,04 g/mol. Weigh 13 g and add it to a 250 ml flask or bottle. Add 200 ml distilled water. Shake evenly and heat up carefully. Remain idle for 2 hours prior to use.
- 3) Oxalic acid, COOH₂, saturated solution

Mw: 90.034 g/mol. Weigh 20 g and add it to a 100 ml flask or bottle. Or 50 g to 250 ml. add 100 ml distilled water. Placed on a hotplate with stirring until solution is dissolved. Leave the bottle or flask in room temperature so that the solution precipitates again. Created at day one.

Equipment:

100 ml Erlenmeyer flasks with narrow neck

Pipette 5 ml *

Parafilm or tin foil

Centrifugal tubes (centrifuge tubes 98/100 x 16/17 x 1-1,2 m.m soda, short conical w/o nm. Codej409916501214, Scherf PraZision Europe)

Centrifuge 5819 R, eppendorf

Coating coverslips with poly-L-lysine

Prepare a stock solution of poly-L-lysine (Sigma P 1274, MW 70,000 – 150,000) at a concentration of e.g. 2 mg/ml in H₂O [or order P 8920 (delivered as a 0.1% stock solution)]. Store aliquots at -20 C.

- 1) Use clean glass coverslips (e.g. 13 mm in diameter) or if not clean, rinse with alcohol MeOH or EtOH or 1% HCL in 70% ethanol. Rinse coverslips with bi distilled H₂O and dry coverslips separately on filter paper in a large dish.
- 2) Prepare a working solution containing 0.2 mg poly-L-lysine/ml in H₂O. Place a 30 – 50 µl drop in the center of the coverslip.
- 3) Allow to settle for at least 30 min in a moist chamber, face up for 1 hour at 60 C or overnight at room temperature.
- 4) The following day the coverslips can be assembled on top of the stubs with sticky carbon film. Attach sample on top of coverslip.

Coverslips can be coated in large batches and stored indefinitely in dust free dishes at room temperature.

Cressington 308UHR (sputtering)

Coating samples with metal:

- 1) Switch main unit, sputter supply and thickness monitor on
- 2) Open nitrogen supply, be careful to not change the outgoing pressure on the regulator
- 3) Press “vent” on the main unit (for at least 6 seconds) , venting the chamber will take at about 3 min
- 4) Lift of the cylinder and place it on a flat, clean surface

- 5) Place your specimen on the sample stage, check the position of the sputter head and if the sample can rotate freely using the rotation control unit. If necessary adjust tilt, rotation, thickness monitor, sample position or the sputter head. Use gloves when working with parts in the chamber
- 6) Refit the cylinder, make sure it fits properly.
- 7) Press “pump” and wait for the vacuum to reach 10-5 mbar on the lower display. This should take a few minutes. Make sure to open the argon gas supply.
- 8) Press “leak”, the system now pulses argon into the chamber. Wait until the pulsing stops, normally after about 1 minute.
- 9) Reset the thickness monitor by pressing “zero” on the thickness monitor unit
- 10) Press “start/stop” on the sputter power supply
- 11) Watch the thickness monitor and press “start/stop” again to stop sputtering when you have reached the requested thickness. This should normally be between 1-5 nm
- 12) Press “vent” on the main unit and take your specimen out of the chamber

To turn off:

- 1) Refit the cylinder, make sure it fits properly
- 2) Press “pump” and wait for the vacuum to reach 10-5 mbar on the lower display. Press “shutdown”
- 3) Turn off both argon and nitrogen gas supply, switch off main unit, sputter power supply and thickness monitor

