

Mastergradsoppgave

Anita Juliane Skøld

Lys og næringsstoffers
innvirkning på
cyanobakteriers oppdrift



Høgskolen i Sørøst-Norge

Fakultet for allmennvitenskapelige fag

Masteroppgave i natur, helse og miljøvern

Anita Juliane Skøld

Lys og næringsstoffers innvirkning på
cyanobakteriers oppdrift.

Studentnummer: 950074

Faculty of Arts and Sciences

Department of Environmental and Health Studies

University College of Southeast Norway

Hallvard Eikas plass

3800 Bø i Telemark

<http://www.usn.no>

© 2016 Anita Juliane Skøld

Sammendrag

Denne masteroppgaven er et litteraturstudie om regulering av cyanobakteriers oppdrift. Cyanobakteriene som er utstyrt med gassvesikler, kan bevege seg opp og ned i vannsøylen. Oppgaven undersøker hvordan lys og næringsstoffer påvirker oppdriften. Oppdriften avhenger av både mengde ballast og antall gassvesikler, og ballast og gassvesikler påvirkes av både lys og næringsstoffer. Oppdriften avhenger av antall gassvesikler og av akkumulering og forbruk av ballastforbindelser, hovedsakelig er karbohydrater. Antall gassvesikler avhenger av produksjon, uttynning og kollaps av vesiklene. Generelt kan man si at ved begrenset vekst pga. begrensning i næringsstoffene nitrogen og fosfor, akkumuleres karbohydrater og cellene mister oppdriften. Når derimot alle disse næringsstoffene er i overskudd, vil oppdriften reguleres av hvor tilfredsstillende lysforholdene er, og ved lysmetning vil lagringen begrenses og karbonet vil hovedsakelig bli brukt til vekst. Lysintensiteten har også betydning for produksjonen av gassvesikler som er maksimal ved lysmetning og gode næringsforhold. Det har vist seg at cyanobakterier kan øke mengden av pigmentet fykocyanin når lysintensiteten blir lav, og på den måten øke fotosyntese-effektiviteten. Hvis lysfangsten er lav, vil lageret av karbohydrater brukes og oppdriften vil øke. Cellene vil dermed flyte oppover i vannsøylen der lysforholdene er bedre. Responsen på lys og næringsstoffer, avhenger blant annet av lyshistorikken og næringshistorikken til cellene. Selv om celler eksponeres for samme lysregime, vil de respondere ulikt, avhengig av forholdene før eksponeringen. F.eks. vil celler med lyshistorikk tilsvarende høy lysintensitet, ha en høyere veksthastighet enn celler som har vokst i lite lys, og høyere veksthastighet gir mer uttynning av gassvesikler. Gassvesikkelvolumet per celle går ned når det oppstår nitrogenbegrensning og fosforbegrensning, og nedgangen er størst ved nitrogenbegrensning. Tilskudd av fosfat til kulturer med fosfatbegrensning gir økt produksjon av gassvesikler, men lystilgangen bør skje minst 5 timer etter fosfat-tilskuddet og det tar over 10 timer før produksjonen starter. Cyanobakterier trenger en responstid på ca. 20 min. før det innstiller seg en likevekt med optimal tetthet- og karbohydratendring. Under responstiden akkumuleres det mindre karbohydrater enn ved likevekt. Vannsøylens miksing er av stor betydning for hvordan cyanobakteriene beveger seg i vannsøylen, og denne bestemmes først og fremst av vind og temperaturforhold. Lysintensiteten kan være så høy ved overflaten at det forårsaker fotoinhibering og oksidativt stress. Lys er den faktoren som har størst innvirkning på oppdriften til cyanobakterier. Ved å sette inn tiltak som reduserer cyanobakterienes lyseksponering vil det være mulig å forhindre at det dannes vannblomst. Ved å mikse vannsøylen tilstrekkelig, vil ikke cyanobakterier ha muligheten til å flyte til overflaten og

danne vannblomst. I tillegg vil miksing av vannsøylen også kunne resultere i at populasjoner med cyanobakterier utkonkurreres av diatomer og/eller grønnalger.

Abstract

This thesis is a literature study concerning the regulation of buoyancy of cyanobacteria. Cyanobacteria with gas vesicles have the ability to move up and down in the water column. This thesis investigates how light and nutrients affect buoyancy. The buoyancy depends on the amount of ballast and gas vesicles, which is affected by light and nutrients. Cell ballast depends on accumulation and consumption of stored molecules, mainly carbohydrates. The amount of gas vesicles depends on production, dilution and collapse of the vesicles. Limited growth due to limitation of the nutrients nitrogen and phosphorus, or prolonged lack of carbon, results in accumulation of carbohydrates and loss of buoyancy. In contrast, when all these nutrients are in surplus, buoyancy will depend on light conditions and at light saturation the accumulation of carbohydrates will be reduced and used primarily for growth. The light intensity is also important for the production of gas vesicles, which is highest at light saturation when the nutrient supply is good. Cyanobacteria can increase the amount of the pigment phycocyanin when light intensity is low, and thereby increase the photosynthetic efficiency. If light capture is low, the stored carbohydrates are used and the buoyancy will increase. The cells will then float upward where the light condition is better. The response to light and nutrients, partly depends on both light and nutrient history of the cells. When cells are exposed to the same light regime, they may respond differently depending on the light and nutrient conditions before the exposure. E.g. cells with light history corresponding to high light intensity, have a higher growth rate than cells grown in low light, and higher growth rates provide more dilution of gas vesicles. Gas vesicle volume per cell goes down when there is nitrogen and phosphorus limitation, and the reduction is greatest at nitrogen limitation. Addition of phosphate to phosphate-limited cultures will increase the production of gas vesicles when light exposure occurs at least 5 hours after the addition, and it takes more than 10 hours before production begins. Cyanobacteria have a response time of approximately 20 min. before they reach equilibrium with optimal change in density and carbohydrate. During the response time cells accumulate less carbohydrate than at equilibrium. Water column mixing is of great importance for the movement of cyanobacteria in the water column, and mixing is primarily dependent of wind and temperature conditions. The light intensity at the surface can cause photoinhibition and oxidative stress. The greatest influence on buoyancy of cyanobacteria is the light exposure. To prevent bloom formation, it is important to reduce the

exposure of light, and physical mixing the water in the lake can do this. The water circulation can prevent the cyanobacteria to move to the surface. It can also result in a change in composition from cyanobacterial dominance to green algae and diatoms.

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	3
Abstract	4
Innholdsfortegnelse	6
Forord.....	7
1 Innledning.....	8
2 Metode	10
3 Teori.....	12
3.1 Limnologi.....	12
3.1.1 Tempererte innsjøer	13
3.1.2 Miksing av vannkolonnen og vindens betydning.	17
3.1.3 Synkehastighet av celler og kolonier.....	19
3.1.4 Lysforhold	21
3.2 Cyanobakterier og celleoppbygging	26
3.3 Cyanobakterier og slektene <i>Planktothrix</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> og <i>Microcystis</i>	30
3.3.1 Nitrogenfiksering.	36
3.3.2 Vannblomst	37
3.3.3 Konkurransfordeler	39
3.4 Fotosyntese og respirasjon hos cyanobakterier.....	41
3.4.1 Fotosyntese og lyshøstende pigmenter.	42
3.4.2 Hemming av fotosyntese	45
3.5 Gassvesikler	46
3.5.1 Gassvesiklenes oppbygging.	47
3.5.2 Gassvesikkelkollaps.....	49
3.5.3 Mengde gassvesikler	52
3.6 Ballast.....	53
4 Faktorer som påvirker oppdriften, hva sier forskningen	55
4.1.1 Lys og næringsstoffers betydning for oppdrift hos cyanobakterier.	58
4.1.2 Modellering og simulering av cyanobakteriers bevegelse i vannsøylen.....	74
5 Oppsummering.	91
6 Referanser	97

Forord

Masteroppgaven er en del av masterstudie i natur-, helse- og miljøvern utført ved Høgskolen i Telemark, Bø og utgjør 60 studiepoeng. Jeg startet på arbeidet med masteroppgaven med å foreta feltarbeid, der jeg hentet vannprøver fra overflaten i Akersvannet i Vestfold, for å se på oppdriften hos naturlige populasjoner av cyanobakterier som dannet vannblomst. I tillegg dyrket jeg batchkulturer av *Microcystis* som ble inkubert i O2 media og kontinuerlig lys, for å studere kulturens respons på endring i lysforhold og næringsstoffene nitrogen og fosfor. Metoden jeg brukte for å registrere endring i oppdriften hos cyanobakteriene var ved bruk av mikroskop og tellekammer. Antall flytende og antall synkende ble telt og forholdet mellom disse ble beregnet. Ved å endre på faktorene lys og næringsstoffer og registrere antall flytende og synkende, kunne jeg si noe om hvordan de responderte på endringer i miljøet. Dette arbeidet viste seg å bli alt for tidkrevende, siden masterstudiet ble gjort ved siden av en 100% lærerstilling. Jeg er glad for at jeg hadde en jordnær og fornuftig veileder, Synne Kleiven, som rådet meg til å heller gjøre en litteraturmaster med samme problemstilling. Selv om mye arbeid var gjort forgjeves, har jeg hatt nytte av mine erfaringer fra både feltarbeidet og laboratoriearbeidet når jeg har jobbet med litteraturmasteren. Synne Kleivens engasjement innen ferskvannøkologi, og Hans Christian Utkilens lidenskapelige interesse for cyanobakterier, bidro til å vekke min interesse for cyanobakterier. Jeg vil takke begge to for den gode veiledningen jeg fikk gjennom studiet.

Bø, 8/6 2015

Anita Juliane Skøld

1 Innledning.

Denne oppgaven tar for seg cyanobakterier som er typiske i norske innsjøer og som kan danne vannblomst. Fenomenet vannblomst beskrives som en opphopning av cyanobakterier i vannoverflaten. En opphopning av cyanobakterier kan forringe vannkvaliteten slik at den hverken egner seg som drikkevannskilde eller til rekreasjon. Vannblomst forringer også levevilkårene for de vannlevende organismene, blant annet ved at oksygeninnholdet kan bli kritisk lavt ved nedbrytning. Det er flere eksempler på fiskedød i innsjøer der årsaken er oppblomstring av cyanobakterier. Flere arter av cyanobakterier produserer i tillegg toksiner. Disse toksinene kan forårsake sykdom og død, ikke bare for de vannlevende organismene, men også for buskap og mennesker som bruker vannet som drikkevannskilde. Vannblomst kan også fungere som en biofilm som gir gode vekstvilkår for bakterier (Gjølme mfl., 2010). På grunn av global oppvarming og økt eutrofiering av innsjøer, kan det se ut til at forekomsten av vannblomst har økt (Paul, 2008). Det er derfor blitt stadig viktigere å overvåke vannkvaliteten i innsjøer og å kunne sette inn nødvendige tiltak for utbedring av vannkvaliteten ved behov. For å kunne forhindre eller forutse oppblomstringer av cyanobakterier, er det nødvendig å forstå hvilke mekanismer som er årsak til oppblomstringen. Cyanobakterier har fascinert forskere i en årrekke og det foreligger utallige studier av disse organismene, som er en av de eldste nålevende organismene på jorda. Cyanobakterienes evne til å respondere på forandringer i miljøet har gjort at de er de mest varierte og utbredte fototrofe prokaryoter som finnes, og det antas at det finnes omkring 1500-2000 arter og ca. 150 slekter. Gjennom ca. 3,5 milliarder år har de klart å tilpasse seg varierte miljøer. De finnes i både arktisk klima, varme kilder, i jordsmonn og ørkener, i saltvann, brakkvann og ferskvann (Ganf, 2000). Cyanobakterier omtales også som blågrønnbakterier, men tidligere ble de feilaktig kalt for blågrønnalger. Det at de er fotoautotrofe, dvs. at de bruker lys til å lage ATP, er årsaken til at de tidligere ble regnet som alger. De inneholder derimot hverken ekte cellekjerne eller kloroplaster og er prokaryote organismer.

Cyanobakterier som kan danne vannblomst er utstyrt med gassvesikler som gir dem oppdrift og mulighet til å bevege seg opp og ned i vannsøylen. Ved positiv oppdrift vil de kunne flyte til overflaten og danne overflateoppblomstring. Undervannsoppblomstring kan også forekomme ved at cyanobakterier stratifiserer i vannsøylen. Da skjer det en stor opphopning av cyanobakterier i et avgrenset område i vannsøylen. Oppdriften til cyanobakteriene knytter seg direkte til cellenes eller kolonienes tetthet i forhold til vannets tetthet. Oppdriften reguleres av flere faktorer og problemstillingen i oppgaven er:

Hvordan påvirker lys og næringsstoffer oppdriften til cyanobakterier? Hvilke faktorer trigger vannblomst?

Målsettingen med oppgaven er å svare på problemstillingene ved å vise til relevant forskning på området.

I hoveddelen av oppgaven trekkes det fram aktuell forskning som beskriver hvorfor og hvordan oppdriften forandres når de fysiske og/eller kjemiske forhold endres. Fysiske forhold som stadig endres er f.eks. lystilgangen, vanntemperaturen, pH og omblandingsforholdene i vannsøylen. Endringer i de kjemiske forholdene kan være tilgangen på næringsstoffer og mengde løst oksygen eller karbondioksid (Ganf, 2000, Howard, 2001). Forskningen som presenteres i oppgaven tar først og fremst for seg lys og næringsstoffene nitrogen og fosfor, men også tilgangen på karbondioksid og omblandingsforholdene i vannsøylen omtales. Hvordan cellene/koloniene responderer slik at oppdriften endres blir også beskrevet. Om en celle eller koloni har nøytral, positiv eller negativ oppdrift avhenger av dens tetthet i forhold til vannets tetthet. Oppgaven ser på flere faktorer og mekanismer som gjør at cellenes tettheten endres, som f.eks. produksjonen av gassvesikler og uttynning av disse, kollaps av gassvesikler, og forandring av cellenes ballast (Reynolds et al., 1987, Oliver et al., 2012). Det er viktig å se sammenhengen mellom de ulike faktorene, og den gjensidige påvirkning de ulike faktorene har på hverandre. Faktorer som form og størrelse på en koloni, eller hvordan omblandingen av vannsøylen er, er eksempler på fysiske faktorer som påvirker cyanobakterienes bevegelse i vannsøylen. Disse faktorene har betydning for henholdsvis flyte-hastighet og cyanobakterienes mulighet til å flyte til overflaten eller til å stratifisere i vannsøylen (Ganf, 2000).

Slektene som omtales i oppgaven inneholder gassvesikler, og de tilhører i hovedsak slektene *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* og *Microcystis*. Disse slektene har gassvesikler og representerer både encellede og flercellede cyanobakterier. *Anabaena* og *Aphanizomenon* har celletråder med spesialceller. *Planktothrix* har også celletråder, men mangler spesialceller. Slekten *Microcystis* representerer en gruppe som er encellet, kolonidannende og uten spesialceller. Slektene er velkjente i norske innsjøer og i tillegg til at de har evne til å danne vannblomst, kan de også produsere toksiner.

2 Metode

Denne masteroppgaven er et litteraturstudie som bygger på faglitteratur om cyanobakterier og limnologi. Høgskolens digitale bibliotek har vært tilgjengelig 24 timer i døgnet, og ved å logge inn på bibliotekets søketjeneste Oria, har det vært mulig å søke i bibliotekets samlede ressurser i ett søk. Det har også vært mulig å søke direkte i de digitale ressursene som Høgskolen i Telemark abonnerer på for å få tilgang på både bøker, fagartikler og forskningsartikler.

Nøkkelord knyttet til oppgavens problemstilling ble brukt som søkeord ved oppstart: «buoyancy cyanobacteria». Etter hvert ble søkeord som «bloom, photoinhibition, Stokes lov, gas vesicles, seiche, LPS, EPS, cyclostat o.l. brukt for å få nødvendig begrepsforståelse og kunnskap nok til å forstå forskningsrapporter og fagartikler.

Søketreffene har hovedsakelig ikke vært avgrenset med tanke på publiseringsår. Eldre forskning har fortsatt verdi, og det har vært interessant og fascinerende å se hvordan eldre forskning fortsatt holder mål. Den har produsert et stort datamateriale, og den har bidratt til nye problemstillinger. I tillegg er resultater, funn og innsamlet data fra eldre forskning nyttig i den nyere forskningen. Når eldre og nyere forskning sammenliknes, bør man være klar over at det kan ha skjedd endringer som kan ha betydning for validiteten i sammenlikningen. Dette gjelder f.eks. endringer av dyrkingsmedia, hvor det tidligere ble brukt høyere fosfatinnhold enn i dag. Fosfatnivået som brukes i dag er tilnærmet det som er vanlig i naturen. Et annet eksempel som også gjelder fosfor er om de utførte målinger av fosfor gjelder organisk fosfor eller uorganisk fosfor. I noen studier har de sett på uorganisk fosfor-opptak, mens i andre har de sett på total fosfor, og det er få studier som har undersøkt fraksjoner av organisk og uorganisk fosfor. For de fleste cyanobakterier ser det ut til at opptaket av fosfor fra organiske kilder er viktigst.

Min egen datainnsamling utgjør en rekke forskningsartikler og noen bøker som jeg organiserte i referanseverktøyet EndNote. Verktøyet har jeg fått tilgang på gjennom høgskolens lisens. Med EndNote har jeg kunnet hente referanser fra ulike databaser og laste ned artikler og bøker som vedlegg til referansene. I skriveprosessen har jeg kunnet henvise til referanser ved å hente disse fra EndNote, og basert på henvisningene ble det automatisk laget en referanseliste i oppgavedokumentet.

Det ville vært enklere og skrevet første delen, teoridelen, med bakgrunn i bøker og ikke forskningsartikler. Forskningsartikler er krevende å lese fordi de ofte tar utgangspunkt i at

leseren har de nødvendige forkunnskaper og fagstoffet formidles meget kortfattet. I en forskningsartikkel presenteres ikke bare ny kunnskap, men også tidligere forskning omtales og diskuteres. Noen av forskningsartiklene tar for seg datamodeller eller matematiske modeller for å kunne simulere cyanobakterienes bevegelser i vannsøylen. Disse modellene bygger på algoritmer og likninger som beskriver det naturlige systemet som modelleres og simuleres. Omfanget av likninger er ofte stort når det skal foretas en simulering av en situasjonen, og det involverer mange parametere og variabler. Det kan benyttes ulike varianter av likninger som beskriver samme fenomen eller situasjon, og det kan derfor være krevende å sammenlikne studier og deres reliabilitet. Modelleringen av cyanobakterienes bevegelse i vannsøylen i oppgaven, er tatt med for å vise betydningen av samspillet mellom de mange faktorene som påvirker oppdriften.

3 Teori

3.1 Limnologi

I limnologien/ferskvannøkologien studeres de fysiske, kjemiske og biologiske prosessene i innsjøer og elver. Fysiske faktorer som lys, pH, temperatur, vind og interaksjonen mellom disse, er av stor betydning for livet i en innsjø. Likeså er de kjemiske faktorene som løste stoffer, gasser og næringsstoffer, samt biologiske prosesser avgjørende for økologien i innsjøer. Oksygen blir tilført vannet på to måter, både ved diffusjon fra lufta og ved fotosyntesen. Mengde som tilføres fra lufta er avhengig av diffusjonen fra luft til vann, og denne diffusjonen er svak under vindstille forhold når vannet er uten bevegelse. Tilførselen av oksygen som skjer ved fotosyntese, er av størst betydning for oksygeninnholdet i ferskvann. Den viktigste karbonkilden for fytoplankton i vann er karbondioksid og bikarbonationer HCO_3^- . Likevekts-likningen viser fordelingen mellom de ulike uorganiske karbonfraksjonene i vann. Fordelingen er avhengig av pH-verdien:



Jo lavere pH-verdien er, desto mer vil ligningen være forskjøvet mot venstre, mens den ved basisk pH-verdi vil være forskjøvet mot høyre. Generelt kan vi si at sterkt sure vann er næringsfattige og lavproduktive, mens basiske vann er næringsrike og produktive (Kalff, 2002).

Når det gjelder nitrogen så kan enkelte cyanobakterier nyttiggjøre seg molekylært nitrogen oppløst i vannet, men ytterligere nitrogentilgang skjer ved tilsig fra omgivelsene og med regnvannet. Fosfor og andre grunnstoffer som kalsium og magnesium forekommer i liten grad i lufta, og disse må derfor tilføres fra omgivelsene. Dette skjer ved avrenning fra jordbruksområder som gjødsles eller ved utslipp av kloakk og industrielt avfallsvann. De norske innsjøer får mineralene sine fra naturlige kilder som fra bunnsedimenter og berggrunnen (Kalff, 2002).

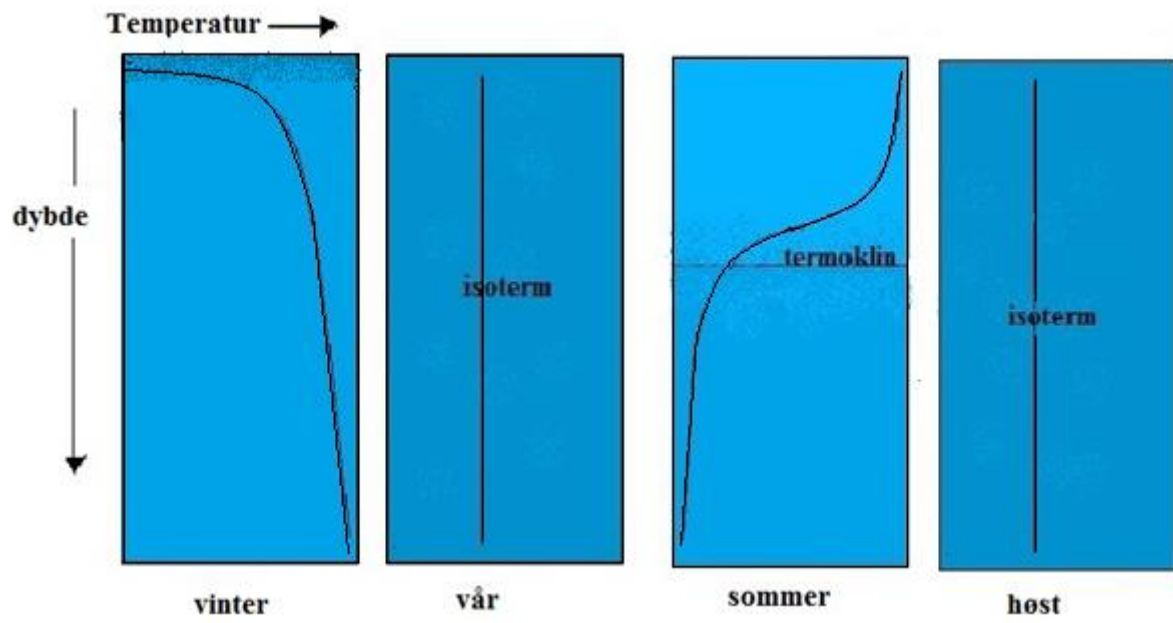
Når fotosyntetiserende organismer som cyanobakterier har god næringstilgang og lever i gode lysforhold (nær lysmetning), vil veksthastigheten være tilnærmet maksimal. Da vil cellene inneholde karbon, nitrogen og fosfor i et forhold som nærmer seg Redfield-forholdet 106C:16N:1P (Oliver mfl., 2012).

3.1.1 Tempererte innsjøer

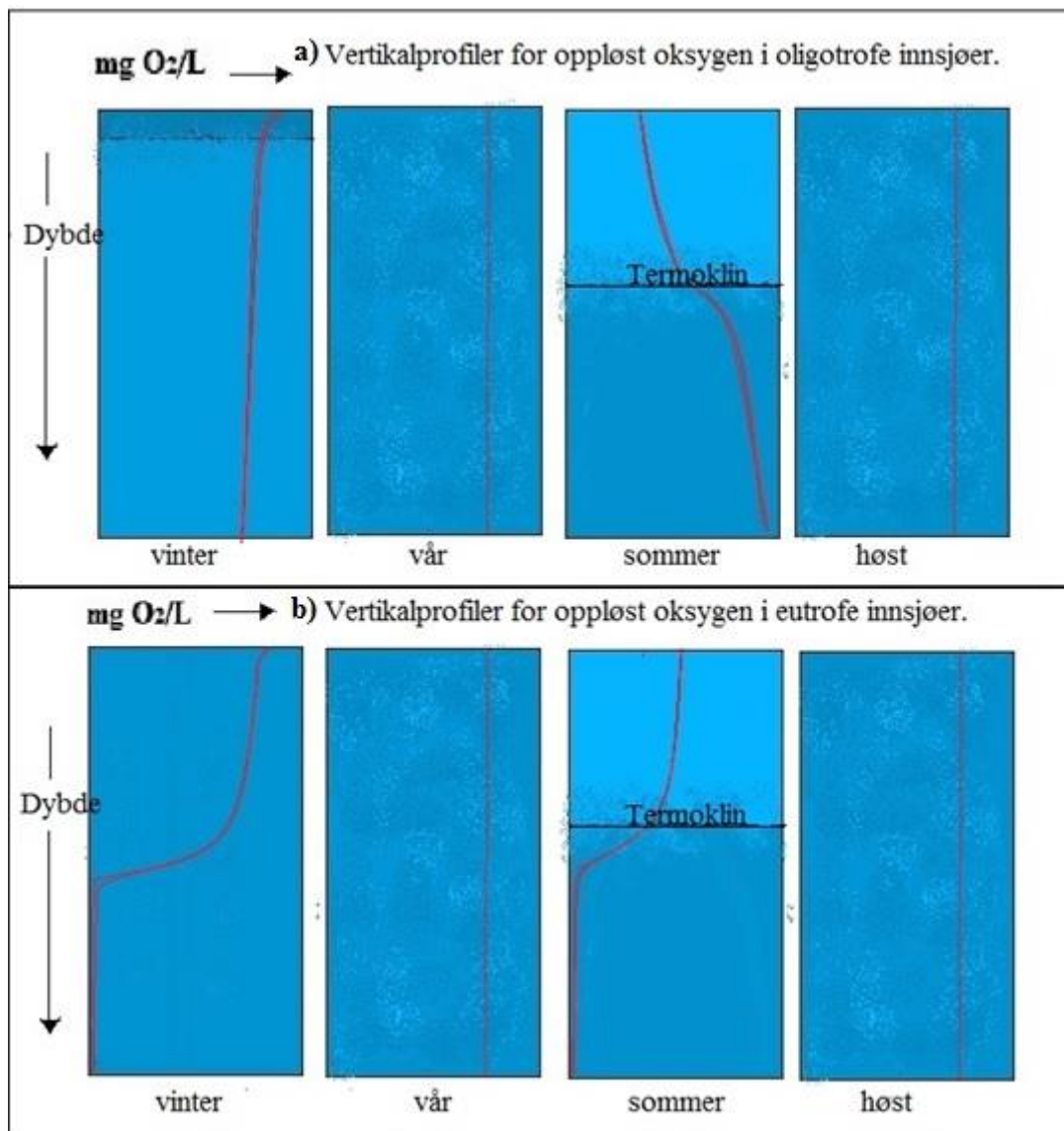
Variasjon i de fysiske, kjemiske og biologiske prosessene i en innsjø gir varierte typer innsjøer som har bestemte kjennetegn. Oligotrofe innsjøer er ofte oksygenrike, men inneholder lite næringsalter (totalfosfor $< 10 \mu\text{gL}^{-1}$) (miljolare.no), og derfor også få arter og lav biomasse. Siktedypet er godt siden vannet ofte er klart pga. liten planktonproduksjon. En oligotrof innsjø er gjerne dyp med bratte sider i innsjøbassenget, og har et stort hypolimnionvolum. Oksygenmengden i vannmassene er god, mens konsentrasjonen av kalsium-fosfor og nitrogen er lav (Kalff, 2002).

De næringsrike innsjøene kalles for eutrofe innsjøer og ligger i motsetning til de oligotrofe oftest i lavlandet. Siktedypet er kort i eutrofe innsjøer, noe som skyldes et rikt dyre- og planteliv pga. et høyt innhold av næringsalter (totalfosfor $> 40\mu\text{gL}^{-1}$), (miljolare.no). I eutrofe innsjøer er volumet til hypolimnion mindre enn volumet til epilimnion, mens det motsatte er tilfelle for oligotrofe innsjøer. Når planterester nedbrytes i hypolimnion under stagnasjonsperiodene (sommer og vinter) i grunne innsjøer, vil det kunne resultere i oksygenmangel. I dypere innsjøer vil volumet til hypolimnion være såpass stort at oksygenmangel ikke forekommer. Begrepet mesotrofe innsjøer brukes om en type innsjø som er middels rik på næringsstoffer (totalfosfor = $10\text{-}40\mu\text{gL}^{-1}$), (miljolare.no).

Strømningene i en innsjø skyldes først og fremst vindforholdene, og ved jevn temperatur i vannsøylen vil denne være isoterm uten variasjon i vannets tetthet. Vinden vil da kunne røre om vannmassene og bidra til at viktige oppløste gasser som CO_2 , N_2 og O_2 sirkuleres sammen med andre stoffer som nitrogen (N), karbon (C) og fosfor (P) som er viktige for fotosyntese. Andre stoffer som er viktige for mikroorganismer er blant annet: jern (Fe), molybden (Mo), kalium (K), svovel (S), kalsium (Ca) (Kalff, 2002). Dersom temperaturskjellene i vannmassen er stor, vil det skje en lagdeling, stratifisering, pga. ulik tetthet i vannsøylen. Vinden vil ikke klare å skape sirkulasjoner i den dype kalde sonen, hypolimnion, men bare i det øverste laget, epilimnion. Strømningene i en innsjø virker inn på en innsjøs ulike vertikallprofiler med tanke på blant annet pH, næringsstoffer og oppløste gasser (Kalff, 2002). Nedenfor viser figurene typiske vertikallprofiler for temperatur (Figur 1) og oppløst oksygen i vannsøylen i oligotrof innsjø (Figur 2a) og i eutrof innsjø (Figur 2b).



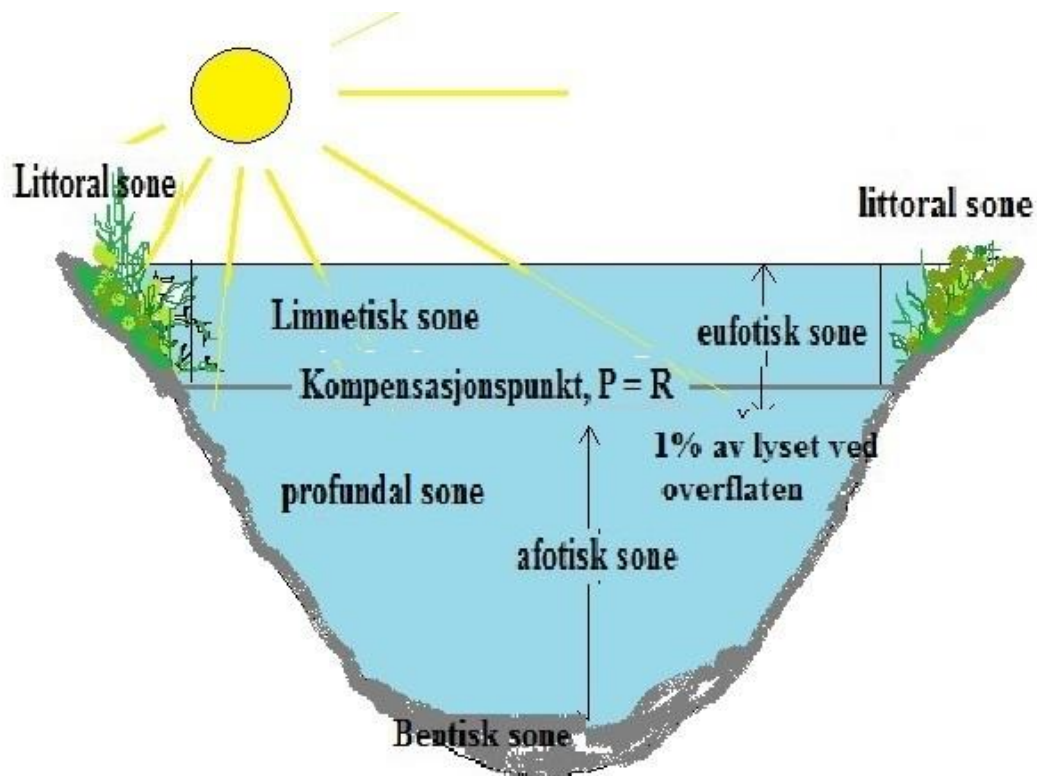
Figur 1 Vertikalprofil for temperatur i vannsøylen ved ulike årstider.



Figur 2 Vertikalprofil for oppløst oksygen i vannsøylen ved ulike årstider, a): oligotrof innsjø, b): eutrof innsjø.

En innsjø deles, på bakgrunn av lysforhold, inn i såkalte strata, som er soner eller lag i innsjøen (Figur 3). Det trofogene stratum er det øverste laget, som er en eufotisk (fotisk) sone med mye fotosyntese (P) og der produksjonen er større enn respirasjon (R) dvs. $P > R$. Denne sonen deles inn i en littoral og limnetisk sone. Den littorale sonen omfatter både bunn og frie vannmasser i de grunne områdene med makrovegetasjon. Den limnetiske sonen omfatter de øvrige frie vannmassene som går ned til kompensasjonsnivået, som tilsvarer dybden der graden av fotosyntese er lik graden av respirasjon, $P = R$. Vannmassene og bunnområdene under kompensasjonsdypet kalles det trofolyttiske stratum, profundalsonen, eller den afotiske sone, der det er lite lys og respirasjonen dominerer over fotosyntese, $R > P$. Begrepet pelagisk

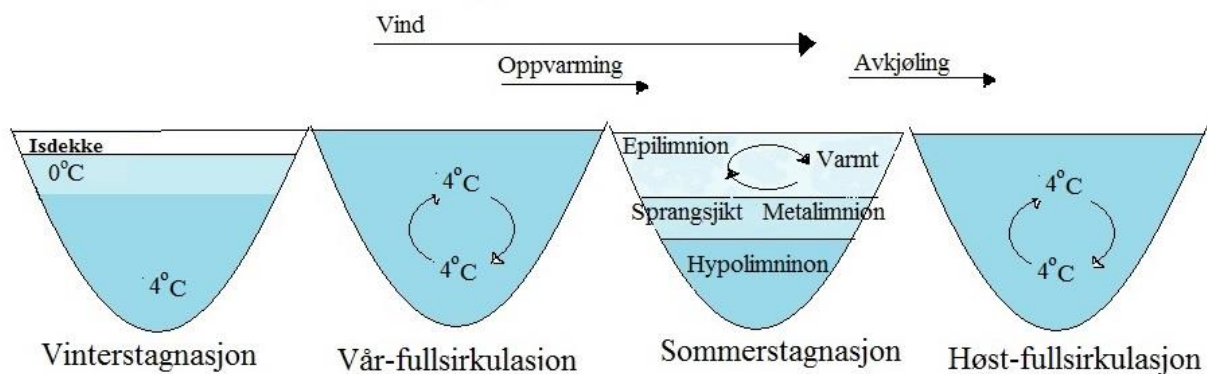
sone viser til de frie vannmassene som ikke ligger nært hverken bunn eller strandsone (Økland, 1975, Kalff, 2002)



Figur 3 Innsjø med de ulike soneinndelingen. Den trofogene (littoral og limnetiske sone) sonen tilsvare den eufotiske sonen og den trofolyttiske sonen den afotisk (profundal sone, bentiske sone. Bearbeidet fra Økland 1979.

De fleste innsjøer i Norge kan kategoriseres som tempererte innsjøer. Det vil si at overflatetemperaturen er over 4° C om sommeren og under denne temperaturen om vinteren. Disse innsjøene har vannstrømninger som er sykliske og bestemt av årstidene, fordi vannets tetthet avhenger av temperatur. Vann har størst tetthet ved ca. 4°C. Pga. dette ses mønster i årlige vannsirkulasjoner, og i Norge er et dimiktisk mønster karakteristisk for mange av innsjøene (Figur 4). I holomiktiske innsjøer blandes alt vannet i perioder. I en monomiktisk innsjø skjer dette en gang i året, mens det i en dimiktisk innsjø blandes to ganger i året. I polymiktiske innsjøer skjer det hyppig eller konstant omblending, mens det i meromiktiske innsjøer aldri skjer fullstendig omblending. I Norge er det vanlig at innsjøene er holomiktiske og dimiktiske siden vannet blandes helt to ganger i året. Dette omtales som vårfullsirkulasjon og høstfullsirkulasjon (Økland, 1975). Periodene i mellom disse tilstandene kalles for

sommerstagnasjon og vinterstagnasjon. Under sommerstagnasjonen oppstår en lagdeling med det varmeste vannet øverst med lavest tetthet og det kaldeste laget dypest, med høyest tetthet. Disse lagene kalles henholdsvis for epilimnion og hypolimnion. Disse lagene skiller av et sprangsjikt der temperaturen endres raskt og dette området kalles for metalimnion. Termoklinen er området der temperaturen endres raskt. Om våren og høsten blir temperaturen i vannmassene så like at vind kan blande om vannmassene. Under omblendingen vil næringsstoffer fra bunnvannet sirkuleres opp mot overflaten. Islaget som eventuelt dekker vannoverflaten om vinteren, vil også påvirke vannkvaliteten ved at vannet får mindre oksygen fra atmosfæren. Temperaturen under islaget er lavere enn temperaturen lenger ned i vannsøylen der den blir +4°C. Siden vannkolonnen er beskyttet av islaget, vil det bli liten turbulens og det vil bli en omvendt stagnasjon med ulik tetthetsgradient i vannsøylen. Det meste av vannsøylen vil være isotherm med temperatur på 4°C. Forskjellen i tettheten mellom 0°C og 4°C er ganske liten, så stratifikasjonen blir mye mer ustabil enn den som forekommer om sommeren (Økland, 1975).



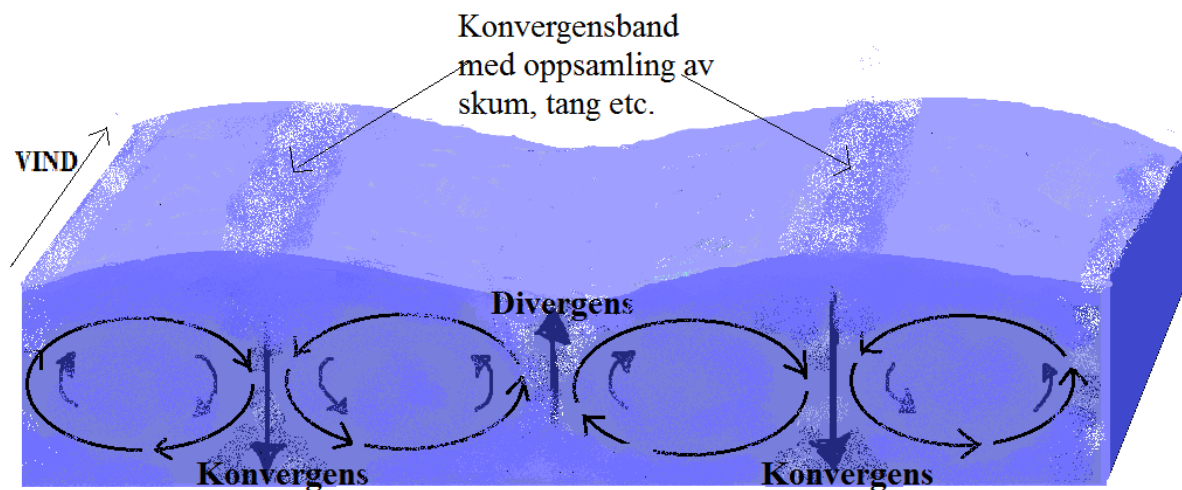
Figur 4 Sirkulasjonsmønster i dimiktisk innsjø med sommer- og vinter stagnasjon og fullsirkulasjon vår og høst. Bearbeidet fra wikipedia.no¹.

3.1.2 Miksing av vannkolonnen og vindens betydning.

Vind kan påvirke vannmassene og medføre miksing/omrøring. Det er flere grunner til at miksing av vannkolonnen er av stor betydning for mikroorganismene som lever der. Mikroorganismer kan fanges av strømminger, vannkjemien kan påvirkes og lysforholdene endres. Maksimum miksedybde (Z_m) og maksimum dybde til eufotisk sone (Z_{eu}) er viktige parametere innenfor ferskvannsekologi. I eutrofe innsjøer er det f.eks. ofte høy turbiditet pga. mye biomasse. Den eufotiske sonen kan dermed være grunnere enn det epilimnion er, og

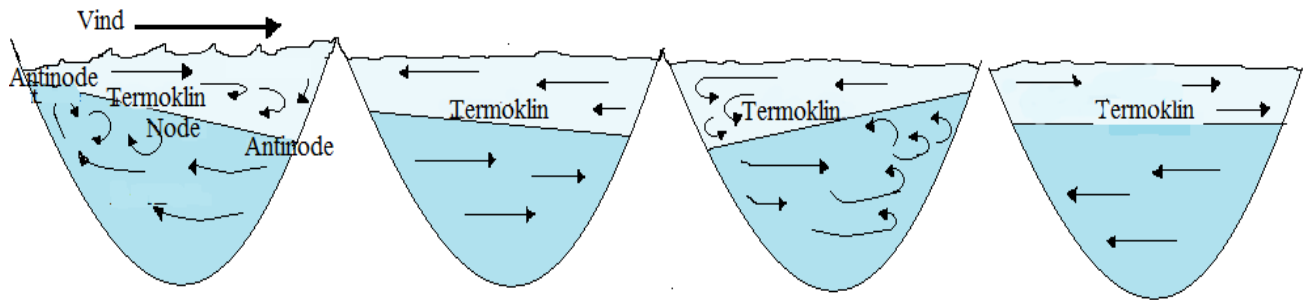
forholdet Z_{eu}/Z_m vil være < 1 . Forholdet Z_{eu}/Z_m er viktig for organismene som lever i vannsøylen siden forholdet beskriver lysregimet de lever i.

Vinden kan lage Langmuirske sirkulasjoner (Figur 5) som består av flere langsomme kontraroterende virvler i vannoverflaten. De kan oppstå raskt og vare fra bare noen minutter til flere timer. De oppstår på dager med vindhastighet fra 3 ms^{-1} eller sterkere og kjennetegnes ved parallelle linjer med skum i vannoverflaten som ligger i vindretningen. Vinden lager celler med roterende vann der de tilstøtende cellene roterer i motsatt retning. Cellene kan være fra noen meter lange til flere kilometer. Cellene går vanligvis ikke dypt i vannsøylen, slik at det oftest er vannmassene i epilimnion som sirkuleres. Vannmassene under termoklinen påvirkes sjelden av Langmuirske sirkulasjoner (Li og Song, 2012)



Figur 5 Langmuirske strømninger med celler der vannsirkulasjonen i de tilstøtende cellene roterer i motsatt retning. Bearbeidet fra wikipedia.no²

Ved langvarig sterk vind kan fenomenet seiche oppstå. Da kan også de dypere vannmassene påvirkes til tross for et tydelig sprangsjikt. Vinden gjør at vannmassene samles opp i en ende av innsjøen, og der vil vannmassene presse sprangsjiktet ned. I andre enden, der vinden kommer i fra, vil sprangsjiktet vippe opp. Når vinden stopper opp, vil innsjøen gå tilbake til sin likevekt. På vei mot denne likevekten kan det oppstå indre seicher. De indre seichene er stående svingninger hvor amplituden kan bli flere meter. Når bølgetog går mot hverandre fra hver side av innsjøen, vil interferens mellom disse skape bølgeknuter/noder. Selve nodene har ingen vertikal bevegelse, men ved antinodene vil det kunne være stor vertikal bevegelse. Det kan også oppstå flere seicher i denne prosessen pga. interferens mellom møtende bølger fra hver side av innsjøen (Kalff, 2002).



Figur 6 Seicher er stående svingninger som kan skapes når langvarig vind avtar og innsjøen går tilbake til sin likevekt. Bearbeidet fra geo.mtu.edu.

3.1.3 Synkehastighet av celler og kolonier.

Cyanobakteriers vertikale forflytning avhenger av om oppdriften er positiv eller negativ, dvs. om de flyter opp eller synker. For et enkelt filament kan den vertikale forflytningen i vannsøylen utgjøre bare noen centimeter hver dag, mens det for en stor koloni av filamenter kan utgjøre flere titalls meter (Pfeifer, 2012). For cyanobakterier kan synkehastigheten variere mye, fra å være minimal til å være betydelig høy. Typisk hastighet for vertikal forflytning i vannsøylen kan være fra $7 \mu\text{ms}^{-1}$ for *Planktothrix rubescens* mens hastigheten for *Microcystis aeruginosa* kan være $3000 \mu\text{ms}^{-1}$ (Reynolds mfl, 1987). Det er størrelsen på filamentene og kolonien som er avgjørende for hastigheten. For cyanobakterier som synker i en rolig vannsøyle, kan synkehastigheten beregnes ved å bruke Stokes lov (Formel 2). Variasjonene i cyanobakterienes morfologi er stor, og det er utarbeidet tabeller for de vanligste cyanobakteriene slik at riktig motstandskoeffisienten benyttes når Stokes lov anvendes. Stokes lov finnes i ulike varianter fordi det er variasjon i symbolbruken i forskermiljøet og om hastigheten beregnes for celler eller kolonier med mucus (Tabell 1).

Stokes lov viser at størrelse, form og tetthet er faktorer som virker inn på partikkelens/koloniens bevegelse i vannsøylen når det ikke er turbulens. Når en kolonis tetthet beregnes kan det være hensiktsmessig å ta hensyn til at mucus (slimete omliggende ekstracellulære stoffer) siden det påvirker cellenes/koloniens tetthet (Formel 1):

Formel 1

$$\rho_{col} = (F \cdot \rho_{cell}) + [(1,0 - F) \cdot \rho_{muc}] \text{ der } \rho_{muc} = \rho_{wat} + 0,7 \text{ og } F = 0,19 \text{ som er cellenes andel av mucus. (Howard mfl., 1996)}$$

Stokes lov forutsetter at det ikke er turbulens og at partiklene er sfæriske, og det er viktig å være klar over at for større kolonier vil Stokes lov gi unøyaktige beregninger. Varianter av Stokes lov (Formel 2):

Formel 2

$$v = 2 g r^2 (\rho - \rho_w) / (9 \phi \mu) \text{ (Wallace og Hamilton, 1999)}$$

Tabell 1: Varianter av Stokes lov med små variasjoner i blant annet symbolbruk.

$$v = 2 g r^2 (\rho_c - \rho') / (9 \eta \phi) \text{ (Kromkamp og Walsby, 1990, Walsby mfl., 2001) eller}$$

$$u = 2 g r^2 (\rho - \rho') / (9 \eta \phi) \text{ (Visser mfl., 1997) eller}$$

$$v = 2 \cdot g \cdot r^2 (\rho_{col} - \rho_{wat}) / (9 \cdot \phi \cdot \eta) \text{ (Howard et mfl., 1996)}$$

Symboler:

$v = u$ = partikkelens eller koloniens hastighet

g = tyngdens akselerasjon

r = radius til partikkelen, filamentet eller kolonien

ϕ = koloniens form-motstandskoeffisienten

$\eta = \mu$ = vannets viskositet

$\rho_w = \rho_{wat} = \rho'$ = tettheten til vannet som omgir cellene eller kolonien

ρ_{col} = er koloniens tetthet.

$\rho = \rho_c$ = tettheten til cyanobakterien.

A = størrelsen på cellevolumet i forhold til koloniens volum

F = cellenes andel av mucus.

3.1.4 Lysforhold

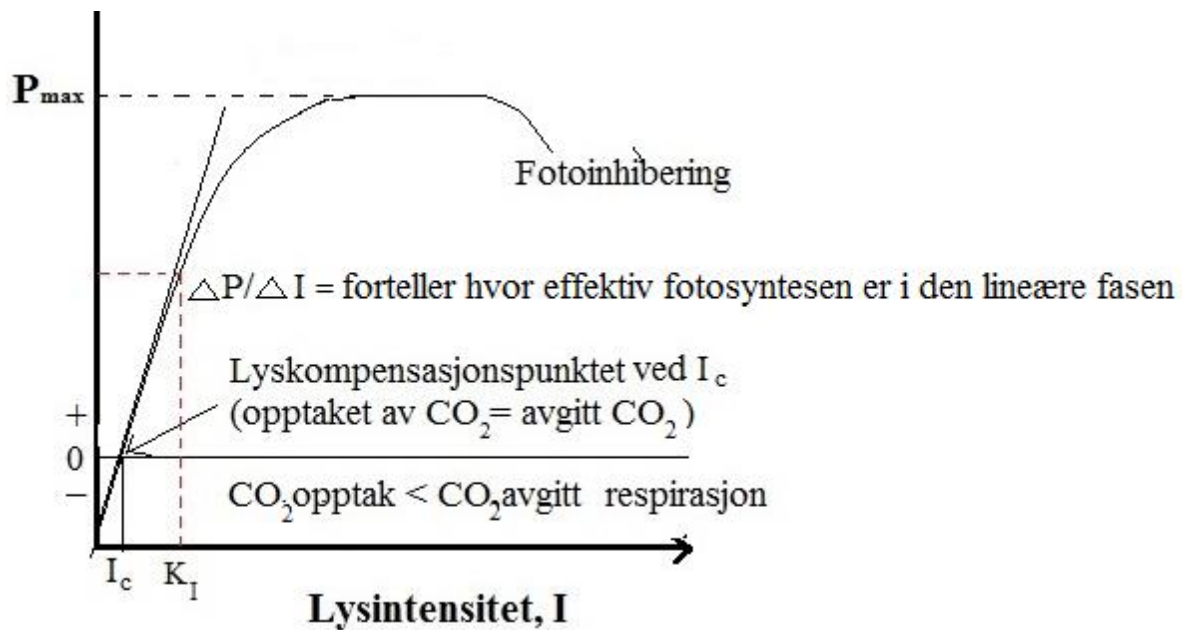
Lysforholdene er avgjørende for cyanobakteriene, ikke bare med tanke på graden av fotosyntese, men også pga. ulike responsmekanismer som knytter seg til lysforholdene. Omtrent 7 % av det lyset som treffer vannflaten, blir reflektert. Resten av lyset trenger ned i vannet der lysklimaet i vannsøylen endres nedover i vannsøylen. Lysintensiteten reduseres eksponentielt nedover i vannsøylen pga. absorpsjon og lysspredning. Både kvaliteten og kvantiteten på lyset nedover i vannsøylen påvirkes av flere forhold i innsjøen. Vann absorberer sterkt i det røde området i lysspekteret, og hvis innsjøen er klar vil dermed det blå lyset dominere nedover i vannsøylen. Dersom en innsjø derimot inneholder mye av løste organiske forbindelser eller mye partikler, vil mye av det blå lyset absorberes og resultere i at det røde lyset dominerer nedover i vannsøylen. Fytoplankton påvirker også lyskvaliteten og dersom det f.eks. er mye grønnalger, vil dette resultere i at lys med bølglengder i det oransje/grønne området vil dominere nedover i vannsøylen, siden algene absorberer i det røde og blå området i lysspekteret. Cyanobakterier kan nyttiggjøre seg det oransje/grønne lyset siden de har fykobiliproteiner som også absorberer lys med bølglengder i dette området i lysspekteret (Oliver mfl, 2012).

Ved hjelp av en hvit rund skive, secchi-skive, hvor diameteren er ca. 25-30 cm, kan man måle hvor langt lyset trenger ned i vannet. Det dypet hvor skiven ikke lenger er synlig fra overflaten, kalles for siktedypet eller kompensasjonsnivået og på dette nivået er ca. 95 % av det innfallende lyset absorbert. Dypere enn dette nivået foregår det nesten ingen fotosyntese. Siktedypet bestemmes hovedsakelig av mengde fytoplankton, innholdet av humusstoffer og mengde slampartikler (Kalff, 2002). En secchi-skive er et nyttig redskap for å bestemme siktedyp, men når det er viktig å måle mengde innstråling både på overflaten og i vannsøylen må lyssensorer benyttes. Da kan det benyttes digitale sensorer som enten måler total innstråling uansett bølglengde, eller dyrere sensorer som klarer å registrere og skille de ulike bølglengdene.

Lys med riktig bølglengde fanges opp av pigmenter og øker energinivået og denne energien kan brukes til å gjennomføre nødvendige kjemiske prosesser som f. eks. fotosyntesen. Tilført energi må være større enn, eller i balanse med forbruket av energi, for at organismen skal være levedyktig. Balansepunktet mellom tilført energi og forbrukt energi kalles for lyskompensasjonspunktet (I_c), og dette punktet vil variere mellom ulike arter. For høy lysintensitet er en kilde til stress og kan skade planktoniske organismer ved at det dannes reaktive oksygensubstanser (ROS). I tillegg til at disse substansene er biprodukter fra aerob

metabolisme, genereres de også av elektrontransporten i fotosyntesen. ROS dannes spesielt når lysintensiteten blir så høy at elektrontransporten i fotosyntesen overgår elektronforbruket i CO₂ fikseringen. Disse reaktive oksygensubstansene kan forårsake oksidativ skade i cyanobakterier og inaktivere fotosyntesen. Cyanobakterier er utsatt for store svingninger når det gjelder lysintensitet, men har tilpasset seg dette ved å ha god evne til å reagere på ROS og initiere antioksidanter til forsvar (Latifi mfl., 2009).

Fotosyntesen hos cyanobakterier responderer direkte på forandring i lysintensitet og temperatur. Målinger av denne responsen har blitt brukt til å kalkulere den potensielle fotosyntesen ved ulike dybder og ved ulike tidspunkt på dagen. Dermed kan den daglige produktiviteten til en populasjon i en innsjø estimeres. Forholdet mellom fotosyntese (P) og lysintensitet (I) beskrives med koeffisienter som kan brukes for å beregne potensiell fotosyntese ut ifra målinger av lysintensitet. I beregningene antas det at P/I holder seg konstant (Walsby, 2001). Når lysintensiteten stadig øker, vil et lysmetningspunktet nås for organismen, og hvis det tilføres mer lys vil det ikke resultere i økt fotosyntese. På samme måte som for kompensasjonspunktet, vil lysmetningspunktet variere fra art til art. Det kan være nyttig å gi en grafisk framstilling av forholdet mellom lysintensitet og fotosyntese ved å lage en PI-kurve (Figur 7). Ved å la lysintensiteten være den uavhengige variabelen på x-aksen, og la y-aksen angi den avhengige variabelen y, for fotosyntese, vil man kunne lage PI-kurver for ulike arter. En slik kurve kan også ta hensyn til fotoinhibering, som viser seg i reduksjon i fotosyntese ved høy lysintensitet (Klemer mfl., 1982).



Figur 7 PI-kurve er en grafisk framstilling av forholdet mellom lysintensitet og fotosyntese for en fotosyntetiserende organisme. Etter hvert som lysintensiteten øker vil den lysbegrensede fasen gå over i en fase med lysmetning og ved enda høyere lysintensitet vil det inntreffe en lysinhiberingsfase. Bearbeidet fra wikipedia.org³

Lysintensiteten (I) i en innsjø avhenger blant annet av årstiden, værforhold, hvor i vannsøylen lysintensiteten måles og turbiditeten og løst material i vannsøylen. PFD er foton-flukstettheten, og uttrykker antall mol fotoner per kvadratmeter per sekund og har derfor benevnningen $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Enheten $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ brukes også om PFD og det hender at energienheten W/m^2 også brukes. Fotosynteseaktiviteten i en innsjø styres hovedsakelig av lys i det synlige spekteret. Området med bølgelengder fra 400nm til 700nm, kalles for PAR-lys (Photosynthetic Active Radiation), og er det lyset som fotosyntetiserende organismer kan benytte (Whitton og Potts, 2000). Stråling med kortere bølgelengder enn 400nm har for mye energi, og vil kunne skade cellene og fotosynteseapparatet, mens lengre bølgelengder enn 700nm har for lav energi for at fotosyntese skal kunne skje. Lysmengde (intensitet) kan måles, men også beregnes, ved å ta i bruk likninger der ulike parametere og variabler benyttes. Beregningene brukes oftest i matematiske modeller og datasimuleringer og nedenfor vises et utvalg av disse beregningsmetodene.

Visser mfl. (1997) og Kromkamp mfl. (1990) beregner lysintensiteten ved overflaten (I_0) ved en gitt tid (t) (Formel 3):

Formel 3

$$I_0 = I_m \sin\left(\frac{\pi t}{D_L}\right) \quad (\text{Kromkamp og Walsby, 1990, Visser mfl., 1997})$$

der I_m er den maksimale lysintensiteten midt på dagen, og D_L er lengden på lysperioden fra morgen til kveld.

Wallace mfl. (1999) beregner lysintensiteten på overflaten (Formel 4):

Formel 4

$$I_0 = I_{max} \sin^3\left(\frac{\pi t}{T}\right) \quad (\text{Wallace og Hamilton, 1999})$$

der I_{max} er satt til verdien $1500 \mu\text{mol fotoner m}^{-2}\text{s}^{-1}$ og T er en fotoperiode på 12 timer.

Howard mfl. (1996) benytter en metode som tar hensyn til flere parametere når han beregner I_0 . Først måles den maksimale lysintensiteten på overflaten (I_m) midt på dagen (kl.12:00) og deretter beregnes lysintensiteten på overflaten (I_{surf}) på et gitt tidspunkt (t) i fotoperiodens lengde (D_L) (Formel 5, Formel 6).

Formel 5

$$i_{surf} = I_m \cdot \left(\pi \cdot \frac{t}{D_L}\right) \quad (\text{Howard mfl., 1996})$$

I 2001 bruker Howard et al. (2001) tilnærmet samme likning, men D_L måles i timer i stedet for minutter og må derfor multipliseres med 60 (Formel 6).

Formel 6

$$i_{surf} = I_m \cdot \left(\pi \cdot \frac{t}{D_L \cdot 60}\right) \quad (\text{Howard, 2001})$$

Ved beregning av D_L og I_m , tas det hensyn til stedets breddegrad og deklinasjonen, δ , beregnes ut ifra antall dager, D , etter vårjevndøgn når δ er 0° (Formel 7) (ved sommersolverv er δ lik $+23.5^\circ$ og ved vintersolverv lik -23.5°)

Formel 7

$$\delta = \sin(23.5) \cdot \left(D \cdot \frac{360}{365}\right) \quad (\text{Howard, 2001})$$

Dagens lengde (D_L) er antall timer fra morgen til kveld, og beregnes ved også å ta hensyn til innsjøens breddegrad (φ) (Formel 8).

Formel 8

$$D_L = 2 \cdot \cos\left[\frac{-\tan\delta \cdot \tan\varphi}{15}\right]^{-1} \quad (\text{Howard, 2001})$$

Solkonstanten (I_{sc}) som Howard et al. (2001) anvender når de beregner I_m , er 1353 Wm^{-2} og gjelder innstrålingen øverst i atmosfæren. På veien gjennom atmosfæren vil denne derimot reduseres slik at en realistisk verdi ikke overstiger 900 Wm^{-2} ved innsjøens overflate, selv på en klar dag med tørr atmosfære (Formel 9).

Formel 9

$$I_m = I_{sc} \cdot (\sin\delta \cdot \sin\varphi + \cos\delta \cdot \cos\varphi) \text{ (Howard, 2001)}$$

PAR utgjør $0,47 \pm 0,01$ av den elektromagnetiske strålingen som treffer innsjøen. I tillegg vil en andel av strålingen bli reflektert på overflaten. For at *isurf* skal kunne sammenliknes med enhetene i PI-kurver, konverteres verdien til foton-fluks-tetthet, PFD (I_0). Disse forholdene tas hensyn til i likningen som beregner I_0 som PFD ved overflaten (Formel 10, Formel 11):

Formel 10

$$I_0 = [(1 - b) \cdot c \cdot isurf]/218 \text{ (Howard mfl., 1996)}$$

Eller

Formel 11

$$I_0 = [(1 - b) \cdot c \cdot isurf]/218000 \text{ (Howard, 2001)}$$

Der I_0 er lysintensiteten ved overflaten (PFD), b er andelen som reflekteres på overflaten (albedo) og c er andelen av den elektromagnetiske strålingen som er PAR, mens *isurf* er den elektromagnetiske strålingen på overflaten.

I_0 vil avta eksponentielt nedover i vannsøylen, avhengig av ekstinksjonskoeffisienten.

Symbolet for ekstinksjonskoeffisienten varierer mye og vanlige symboler er η , K , k og ϵ .

Lysset dempes pga. turbiditeten fordi partiklene absorberer eller sprer lyset og ekstinksjonskoeffisienten er et mål på dempningen av lyset.

Formel 12 uttrykker Beers lov og beregner lysintensiteten på en gitt dybde (I_z) der z er målt fra overflaten. Ved å bruke ekstinksjonskoeffisienten tas det hensyn til dempningen i vannsøylen (Formel 12).

Formel 12

$$I_z = I_0 e^{-\epsilon z} \text{ eller } I_z = I_0 e^{-Kz} \text{ eller } I_z = I_0 e^{\eta z} \text{ (Kromkamp og Walsby, 1990, Visser mfl., 1997, Wallace og Hamilton, 1999, Howard, 2001)}$$

I innsjøer med lav ekstinksjonsverdi, vil lyset trenge lengre ned i vannsøylen enn for innsjøer med høyere k verdier. Mellom to dybder, z og $z + 1m$, kan ekstinksjonskoeffisienten beregnes med formelen (Formel 13):

Formel 13

$$K, k \text{ eller } \epsilon = \ln(I_z/I_{z+1m})/(1m) \text{ (Walsby, 2001)}$$

Når det foretas flere målinger eller beregninger av lysintensitet ved ulike dybder, kan det være gunstig å bruke den gjennomsnittlige lysintensiteten, mellom to dybder (Formel 14).

Formel 14

$$\bar{I}_z = (I_{z2} - I_{z1})/(\ln I_{z2} - \ln I_{z1}) \text{ (Kromkamp og Walsby, 1990, Visser mfl., 1997)}$$

der \bar{I}_z er den gjennomsnittlige lysintensiteten mellom to dybder, z_1 og z_2 .

Dybden for lyskompensasjonspunktet der mengde lys er redusert til omtrent 0,5-1 % av lysmengden ved overflaten, angir grensen for positiv netto fotosyntese i fototrofe organismer, (Kalff, 2002). Noen organismer som f.eks. *Planktothrix rubescens* har vist seg å trenge enda mindre lys, tilsvarende $2 \mu\text{mol m}^{-2}$ (0,13% av lysmengden ved overflaten) for å drive positiv netto fotosyntese og vekst (Walsby, 2001).

Beregning av fotosyntesegraden (Formel 15):

Formel 15

$$P = P_{\max}[I] / (KI + [I])$$

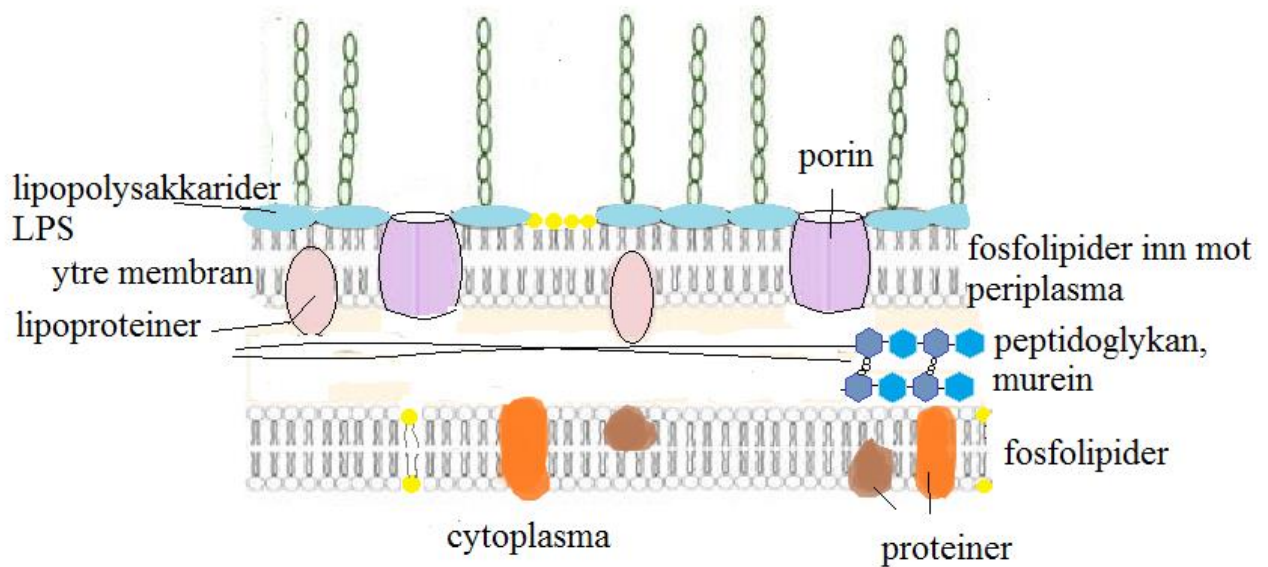
der P_{\max} er den maksimale potensielle fotosyntese til en organisme. I er lysintensiteten og KI er lysintensitet som tilsvarer intensiteten ved halvparten av P_{\max} ,

3.2 Cyanobakterier og celleoppbygging

Cyanobakterier er gramnegative bakterier. De har en ytre membran med lipopolysakkarider, LPS, på overflaten av membranen. LPS kan gi utslett på huden ved bading og også feber og influensalignende symptomer hvis man får det i seg enten ved svelging eller ved innånding av aerosoler eller som støv av tørkede cyanobakterier. Disse lipopolysakkaridene omtales også som endotoksiner og er et kompleks bygget opp av tre sub-enheter bestående av et lipid (lipid A) og et polysakkarid der den ytre del av polysakkaridet er et O-antigen (Whitton og Potts, 2000). Den ytre cellemembranen inneholder også poriner som fungerer som kanaler som

molekyler kan diffundere igjennom. Den ytre membranen har et dobbeltlag med fosfolipider vendt inn mot spalterommet, det periplasmatiske rom. I periplasma ligger den indre membranen som består av bare ett eller to lag med peptidoglykan. Peptidoglykan er et polymer av to alternerende sakkarider som lagvis er bundet sammen med peptidbindinger. Den indre og ytre membranen bindes sammen med lipoproteiner og karbohydrater. Det neste laget er cellemembranen/plasmamembranen som omgir cytoplasma. Den er bygd opp av fosfolipider med et hydrofilt hode og en hydrofob ende og inneholder også proteiner og ionekanaler (Figur 8).

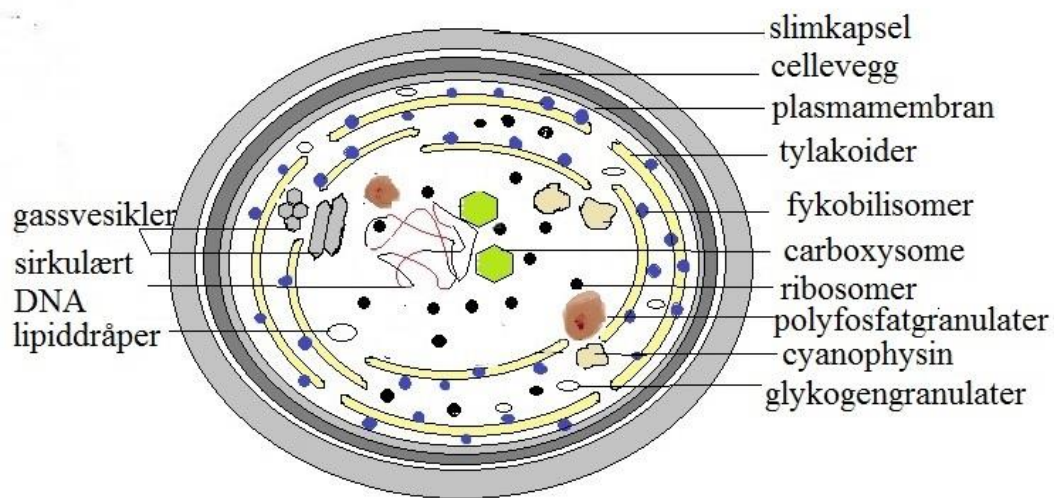
Mange cyanobakterier utsondrer ekstracellulære polymere stoffer, exopolysakkarider (EPS) og/eller er omgitt av en ekstracellulær matrise (ECM). Disse stoffene kan ligge som en hylse, lik en tynn og tett film som løst omgir celler eller cellegrupper, eller som et mindre fortettet geleaktig slimlag. Det kan også være som et tykt lag som omgir celleoverflaten, en såkalt kapsel. Området som omgir cellene evner å gjenkjenne miljømessige forstyrrelser og det sender denne informasjon inn til cellene. Dette området kan betraktes som et bindeledd mellom cellene og miljøet rundt, der det skjer en kommunikasjon slik at cellene og koloniene kan respondere på forandringer i miljøet (Helm og Potts, 2012). Noen cyanobakterier frigjør også EPS til omgivelsene som løselige polysakkarider (RPS) (Chug og Mathur, 2013).



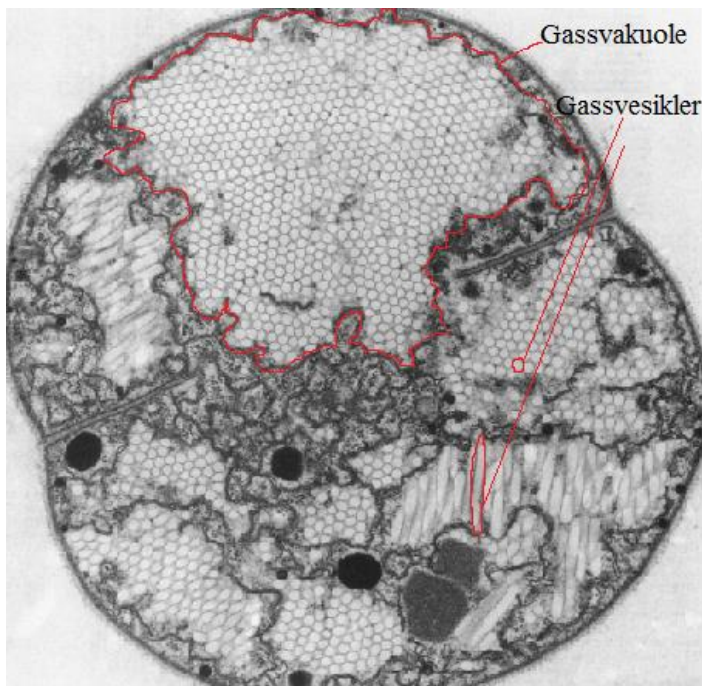
Figur 8 Cyanobakterier er gramnegative bakterier. Lipopolysakkarider er tilknyttet den ytre membranen, men mange cyanobakterier utsondrer også exopolysakkarider og kan være omgitt av en ekstracellulær matrise. Bearbeidet fra koofers.com.

Cyanobakterier har ingen ekte cellekjerne eller organeller. Det sirkulære DNA er foldet og bundet til proteiner og det flyter fritt i cytoplasma i den sentrale regionen i cella. Enkelte cyanobakterier har også plasmider. Rundt den sentrale regionen, flyter mengder med ribosomer der proteinsyntesen foregår, og i det perifere området ligger thylakoider der fotosynteseapparatet inngår. Fykobilisomer er festet til thylakoidmembranen ut mot cytosol, der pigmenter som kalles for fykobiliproteiner fanger fotoner og overfører lysenergien til klorofyll a. I cytosol ligger det avgrensede områder med heksagonalt pakke gassvesikler som kalles for gassvakuoler. Gassvesiklene er laget av proteiner og er sylindrerformede med koniske ender og rigide vegger. I tillegg har cyanobakterier en eksepsjonell evne til å lagre næringsstoffer og metabolitter i granulater. Glykogengranulater fungerer som langsiktig energilager for cellene (Mur mfl., 1999). Cyanophysin granulater ligger mot periferien og inngår i nitrogenmetabolismen. De består av aminosyrene aspartat og arginin som er viktige komponenter i produksjonen av gassvesikler. De representerer også et nitrogenlager ved at de raskt brytes ned ved nitrogenbegrensning. Cyanophysin akkumuleres når cellene får for lite lys, svovel og fosfor og når temperaturen er lav. Et annet nitrogenlager er det lyshøstende pigmentet fykocyanin, som også brytes ned når cellene opplever nitrogenbegrensning

(Sejnhová mfl., 2008). Lager av fosfor i polyfosfatgranulater, carboxysomer som fikserer karbon og lipiddråper flyter også rundt i cytosol (Figur 9, Figur 10)



Figur 9 Oppbygging av cyanobakterie-celle med slimkapsel. Bearbeidet fra cronodon.com



Figur 10 Tverrsnitt av Microcystis-celle som viser avgrensede områder, gassvakuoler, med heksagonale gassvesikler. Bildet viser også ulike granulater og at cellen er i ferd med å dele seg. Bearbeidet fra microbiologybytes.com.

3.3 Cyanobakterier og slektene *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Microcystis*

Cyanobakterier kan være encellede eller flercellete. Celletråden i de flercellete cyanobakteriene kan bestå av enkle cellerrekker, eller cellerrekker i flere lag. I litteraturen omtales celletrådene også som filamenter eller thricomer. Både de encellede og de flercellete kan opptre enkeltvis eller i kolonier. De encellede formerer seg ved fisjon i ett, to eller tre plan, eller ved sporer. De trådformede bryter opp i flercellete små biter som vokser til thricomer med normal lengde ved celledeling. Det er ikke uvanlig at thricomene brytes opp slik at det frigjøres korte tråder/fragmenter fra den opprinnelige kjeden og bruddet skjer gjerne ved heterocyster. De nye små celletrådene kalles for hormogonier som ved celledeling vokser til thricomer, og disse kan med glidende bevegelser fjerne seg fra den opprinnelige populasjonen (Mur mfl., 1999).

De flercellete trådforma cyanobakteriene kan også danne spesialceller, akineter, som kan overleve lange perioder under ugunstige miljøbetingelser, for siden å spire når miljøforholdene tillater det (Mur mfl., 1999, Ganf, 2000). Nye populasjoner kan også dannes ved at hvilesporer i bunnsedimentene, såkalte akineter, spirer og frigjøres til vannmassene. Akineter dannes ved at vegetative celler endrer seg til større celler med tykkere vegg. Disse hvilesporene er tyngre enn vann slik at de synker ned til bunnen for å spire på et senere tidspunkt. Canonical korrelasjons-analyse har vist at den viktigste faktoren som stimulerer til dannelse av akineter er temperaturfall. Samme analyse viste også at uorganisk fosfor hadde noe positiv effekt, og dette kan indikere et visst minimumsbehov for denne type næring for å danne akineter (Kravchuk mfl., 2006). Samtidig med at temperaturen synker mot høsten, reduseres lystilgangen og næringsopptaket avtar og det blir energimangel. Akinetene er betraktelig mer robuste enn de vegetative cellene og kan overleve i opptil flere tiår i sedimentet. For at disse akinetene skal spire trengs det både tid og et visst indre energinivå. For å fremskynde spiringen bør forholdene være gunstige med tanke på næringstilgang, temperatur og lys og akinetene må frigjøres til vannfasen. Når akinetene spirer utvikler de seg til vegetative celler med gassvesikler som vil gi de oppdrift (Hense og Beckmann, 2006).

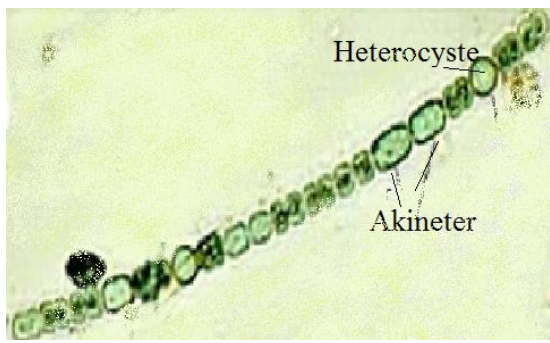
De encellede, kolonidannende cyanobakteriene hører til ordenen Chroococcales, mens ordenene Oscillatoriales, Nostocales og Stigonematales er flercellete og trådformede cyanobakterier. Ordenen Oscillatoriales karakteriseres ved enkle celletråder uten forgreininger og uten heterocyster. Nostocales består av enkle tråder eller tråder med forgreininger som kan

være både ekte eller falske. Noen av slektene inneholder spesialceller som heterocyster som kan fikserer nitrogen og akineter som er robuste hvilesporer (Mur mfl., 1999).

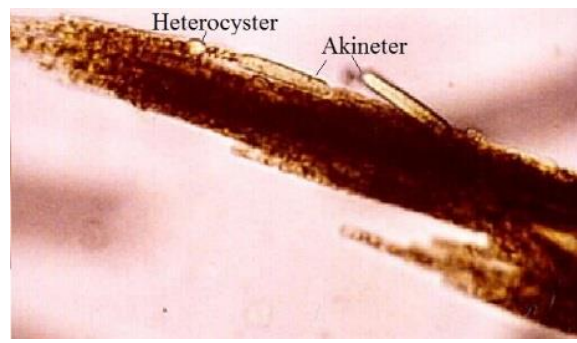
I oppgaven omtales hovedsakelig slektene *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Planktothrix* og enkle morfologiske kjennetegn kan ses i Tabell 2 og Figur 11.

Tabell 2 Noen morfologiske kjennetegn på slektene *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Planktothrix*.

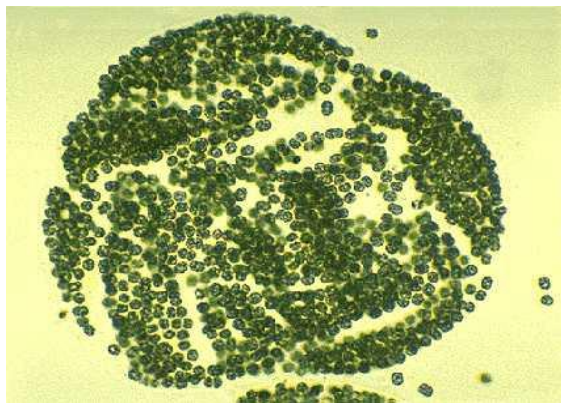
Orden	Slekt	En-celle	Tråd-celle	Koloni-dannende	Nitrogen-fikserende
Chroococcales	<i>Microcystis</i>	x		x	
Nostocales	<i>Anabaena</i>		x	x	x
	<i>Aphanizomenon</i>		x	x	x
Oscillatoriales	<i>Planktothrix</i>		x	(Under spesielle forhold kan de aggregere og lage små kuleformede kolonier.)	



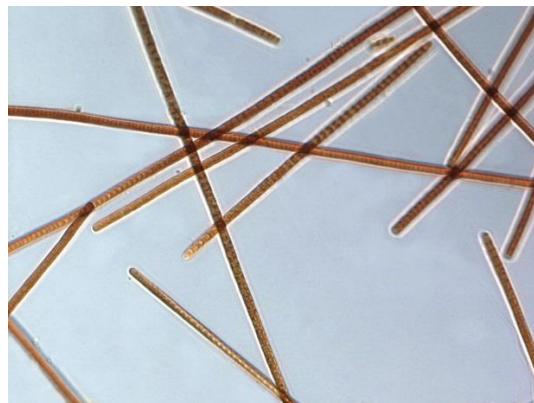
a) *Anabaena* <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/images/lgimages/ANAB2.JPG>



b) *Aphanizomenon* <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/images/lgimages/APHANZ1.JPG>



c) *Microcystis* <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/images/lgimages/microcy3.jpg>



d) *Planktothrix* http://media.nordicmicroalgae.org/large/Planktothrix%20agardhii_1.jpg

Figur 11 Bilder av slektene *Anabaena* (a), *Aphanizomenon* (b), *Microcystis* (c) og *Planktothrix* (d) og som viser typiske morfologiske kjennetegn.

Veksthastigheten til cyanobakterier er vanligvis lavere enn veksthastigheten til alger. Ved 20°C og lysmetning, gir vanligvis veksthastigheten en dobling lik 0,8-1,9 per dag, sammenliknet med f.eks. grønnalger som kan ha veksthastighet tilsvarende 1,3-2,3 doblinger

per dag (Mur mfl., 1999). Slektenes morfologi og vekst varierer også innenfor samme art og har bidratt til å gjøre det til dels vanskelig å klassifisere cyanobakterier. I slektene *Anabaena* og *Aphanizomenon* kan noen organismer forekomme med heterocyster og akineter mens andre kan mangle disse spesialcellene. Variasjonene kan være forårsaket av miljømessige faktorer som gir stressreaksjoner som f.eks. begrensning i nitrogentilgang eller beiting (Whitton og Potts, 2000).

Microcystis er en utbredt encellet organisme som trives i eutrofe innsjøer. Cellene kan danne flere millimeter store globulære eller semi-sfæriske kolonier som inneholder titusenvise av celler. I naturen finnes det noen arter som lever alene som encellede organismer, men det vanligste er at de aggregerer til kolonier. Cellene varierer i størrelse, avhengig av art, og noen arter har en cellediameter mindre eller lik 1µm, mens andre har en cellediameter større enn 8µm. Eksempelvis har *Microcystis aeruginosa* en cellediameter fra 4-6,5µm og *Microcystis flos-aquae* har en diameter fra 3,5-4,8µm (Šejnohová og Maršálek, 2012). Cellene er omgitt av slim som har ulike funksjoner som f.eks. at det binder cellene sammen og gir beskyttelse mot det ytre miljøet. I tillegg er det naturlige populasjoner av heterotrofe bakterier som lever på den geleaktige overflaten. Når det gjelder veksten til *Microcystis* har studier vist at maksimal fotosyntesehastighet skjer med en lysintensitet lik 753 µmol s⁻¹m⁻² ved 20°C (Howard mfl., 1996).

Tradisjonelt har de ulike artene av slekten *Microcystis* (Figur 11c) blitt beskrevet ut ifra formen på kolonien, strukturen til gelelaget, cellediameter, tetthet, hvordan cellene er organisert i kolonien, forholdet mellom fykocyanin og fykoerytrin og livssyklusen til arten (Šejnohová og Maršálek, 2012).

Selv om en ofte assosierer *Microcystis* med synlig plankton og gjerne som skum i overflaten, utgjør den pelagiske (planktoniske) perioden i våre tempererte innsjøer bare 1/3 av den årlige syklusen (Whitton og Potts, 2000). Når temperaturen synker på høsten vil store deler av populasjonen sedimentere og overvintre i det bentiske bunnsjiktet, men det vil også være en andel som overvintre i vannmassene (Whitton og Potts, 2000). Selv om det bare er en liten andel av populasjonen som overvintre i vannmassene, så har det vist seg at den pelagisk overvintrende andelen av populasjonen har større innflytelse på oppblomstring om sommeren, enn den andelen som overvintre i sedimentene. I den eutrofe innsjøen Volkerak i Nederland, undersøkte Verspagen mfl. (2005) de pelagiske og bentiske populasjonene. Resultatene viste at den pelagiske populasjonen var tre til seks ganger mindre enn den bentiske populasjonen om våren. Videre ble det brukt en modell som kalkulerte at det ville bli 64% mindre

oppblomstring om sommeren, hvis den pelagisk overvintrende populasjonen ble fjernet. Hvis en kunne forhindre rekruttering fra den bentiske andelen ville sommeroppblomstringen bli redusert med 50% (Verspagen mfl., 2005). Hvileperioden i bunnsjiktet omtales ofte som «overvintring», men dette er noe misvisende, siden de kan overleve i lengre perioder. Det er utført laboratorieforsøk som bekrefter at de kan begynne å vokse etter lange hvileperioder. Årsaken til dette skyldes blant annet det ytre slimlaget som beskytter mot blant annet nedbrytning. Når vekstforholdene er gunstige igjen, først og fremst med tanke på temperatur og lys, vil det skje ny rekruttering til vannmassene. Hvileperioden i sedimentene er også viktig med tanke på at cellene får tilgang på fosfor i bunnsedimentene som akkumuleres i cellene. Dette er en viktig energikilde under overvintring, og når de frigjøres til vannmassene gir fosforlageret et viktig fortrinn i forhold til annen fytoplankton (Whitton og Potts, 2000). Hvor stor rekrutteringen til vannmassen er, avhenger av hvor mange celler/kolonier som overlever hvileperioden. Brunberg mfl. (2002) utførte en studie med kolonier av *Microcystis* der de simulerte overvintringssituasjoner på både grunt og dypt vann. For å etterlikne forholdene ved overvintring i sedimenter på grunt vann, ble koloniene blant annet eksponert for mye lys og situasjoner som skulle etterlikne ulike vær-situasjoner. For disse koloniene ble det registrert meget lav overlevelse (6-7%). For koloniene som ikke var blitt utsatt for lys, og med en temperatur lik 4°C for å etterlikne overvintring i sedimenter på dypt vann, var overlevelsessevnen betydelig større (Brunberg og Blomqvist, 2002). Denne studien viste at overlevelsessevnen i sedimentene reduseres dersom de blir utsatt for mye lys, slik tilfellet er ved sedimentering på grunt vann. En større andel vil allikevel kunne overleve hvis det vinterstid legger seg is. Det er lettere for overvintrende kolonier å frigjøres til vannfasen fra grunne sedimenter, enn fra dype sedimenter, der de ofte fanges (Brunberg og Blomqvist, 2002).

Slekten *Planktothrix* hører til ordenen Oscillatoriales. De er trådformede cyanobakterier med og uten slire og de reproducerer ved celledeling. De består av enkeltvise thricomer uten forgreining og kan bli ca. 4 mm lange (Figur 11d). Populasjonen vokser ved at små biter brytes av thricomene og ved celledeling vokser disse bitene i lengden og utvikler seg til nye thricomer. Hormogoniene er også små biter av celletråden som kan brytes av og som med glidende bevegelser kan flyte bort fra kolonien og danne ny koloni. Disse vokser videre ved celledeling til nye thricomer (Mur, 1999). Slekten *Planktothrix* regnes for å være en ikke-kolonidannende slekt, men det er eksempler på at de allikevel kan danne kolonier under bestemte forhold. Kuleformede kolonier på 3 mm av rød *Planktothrix agardhii* ble observert om sommeren 1983 i Gjersjøen i Norge av Walsby, Utkilen og Johnsen (1983). Koloniene

fløt til overflaten på morgenen og dannet overflate-oppblomstring, men forsvant utover dagen for deretter å bli synlig igjen neste morgen. En mulig forklaring på fenomenet kunne knyttes til den høye konsentrasjonen av filamenter i den stratifiserte vannsøylen. Der konsentrasjonen av filamenter var høy, kom filamenter lettere i kontakt med hverandre. Med glidende bevegelser ved direkte kontakt mellom filamentene ble det dannet små kuleformede kolonier. Pga. positiv oppdrift beveget de seg oppover i vannsøylen og ble stadig større fordi de kolliderte med frie filamenter som ble en del av kolonien. Disse voksende koloniene beveget seg raskere i vannsøylen enn de frie filamentene pga. deres form og størrelse (Stokes lov) og kunne derfor danne daglige oppblomstringer i vannoverflaten (Walsby mfl, 1983). Når det er snakk om oppblomstringer av *Planktothrix rubescens*, skjer det som oftest i metalimnion der de kan nyttiggjøre seg lyset siden de inneholder det røde pigmentet phycoerytrin.

Stratifisering er mulig fordi de har evne til å finjustere oppdriften med det resultatet at populasjonen får optimale betingelser for vekst (Reynolds mfl., 1987). Arten *Planktothrix agardhii* lever oftest i epilimnion i turbulente innsjøer, der den gode miksing av vannsøylen forhindrer at de stratifiserer. Innsjøene de lever i er i tillegg ofte grunne, turbide og eutrofe.

Planktothrix rubescens og *Planktothrix agardhii* kan godt leve i sameksistens, slik det f.eks. er tilfelle i Steinsfjorden i Norge. Der dominerer de fytoplanktonsamfunnet, og de siste tiårene har de regelmessig dannet vannblomst både sommerstid og vinterstid (Rohrlack, 2008). I stagnasjonstiden om sommeren danner de oppblomstringer på 10-14 meters dyp, mens det vintertid kan forekomme oppblomstringer under isen. Ved giftproduserende oppblomstringer av *Planktothrix* har det vist seg at toksin-nivået per biomasse har vært meget høy. De metalimniske oppblomstringene finner oftest sted der lysintensiteten er 1-5% av overflatens lysintensitet og når forholdet mellom dybden på den eufotiske sonen og miksedybden (Z_{eu}/Z_m) er mellom 0,7 og 1,2 (Mur mfl., 1999).

Tradisjonelt har slekten *Planktothrix* blitt klassifisert ut i fra morfologiske kjennetegn, som f.eks. farge og cellestørrelse, mens andre i senere tid har basert klassifiseringen på genetiske og fenotypiske egenskaper (Tooming-Klunderud mfl., 2013). Det kan uansett metode, være vanskelig å klassifisere cyanobakterier når det finnes ulike stammer (undergrupper av individer innenfor en art). Disse stammene kjennetegnes kjemisk ved at de produserer spesifikke bioaktive oligopeptider.

Planktothrix-populasjonen i Steinsfjorden er sammensatt av flere stammer som kan deles inn i fire kjemotyper ved at de produserer bioaktive oligopeptider (Rohrlack, 2008). I en av disse stammene forekommer det både grønne og røde organismer (Rohrlack, 2008, Tooming-

Klunderud mfl., 2013). Det har vist seg at horisontal genoverføring av genet som syntetiserer det røde pigmentet fykoerytrin kan skje blant nært beslektede stammer, slik at normalt grønnpigmenterte stammer av *Planktothrix* kan bli rødpigmentert. Graden av horisontal genoverføring, genetisk rekombinering er stor, og forekomsten av flere kjemotyper enn det vi ser i Steinsfjorden er vanlig å se i populasjoner ellers i Europa. Hyppig horisontal genoverføring har den effekt at en får økt nisje-differensiering som gjør sameksistensen av ulike *Planktothrix*-populasjoner mulig (Rohrlack, 2008).

Slekten *Anabaena* er trådformet og cellene er omgitt av ekstracellulære stoffer, dvs. en kappe med slim. De kan ha akineter og for omtrent hver tiende celle kan det utvikles en heterocyste. Vegetative celler deler seg kontinuerlig slik at filamentet forlenges og til slutt brytes av slik at det dannes en ny kjede (Figur 11a).

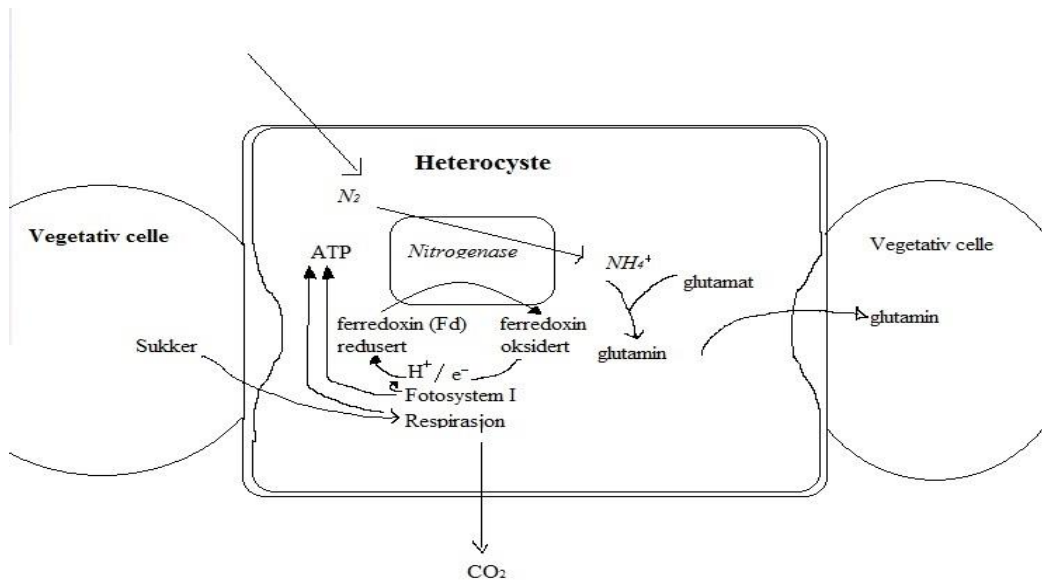
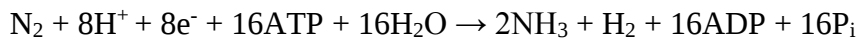
Slekten *Aphanizomenon* danner ca. 1mm lange tråder som ligger parallelt i forhold til hverandre. De danner bunter som kan være opp til 2 cm lange og 3 mm brede. Trådene er ofte smalere ytterst og mer gjennomsiktige enn de cellene som sitter sentralt. De kan ha både akineter og heterocyster og kan produsere toksiner (Figur 11b).

3.3.1 Nitrogenfiksering.

Slektene *Aphanizomenon* og *Anabaena*, tilhører ordenen Nostocales, og fikserer nitrogen i egne spesialceller, heterocyster. Disse slektene har en livssyklus som påvirkes av indre og ytre faktorer og cellene er ulike, avhengig av stadiene i syklusen. Dersom nitrogentilgangen blir for liten, danner de spesialiserte celler, heterocyster, som fordeler seg i regelmessige intervall i filamentet. Heterocystene kan fikserer nitrogen og det er en mutualisme mellom disse spesialiserte cellene og de vegetative cellene (Mur mfl., 1999). De vegetative cellene overfører sine karbonforbindelser fra fotosyntesen til heterocystene, mens nitrogenet overføres fra heterocystene til de vegetative cellene. Der assimileres de til organiske nitrogenforbindelser som f.eks. aminosyrer, proteiner, klorofyll og andre viktige forbindelser. Det er enzymkomplekset nitrogenase med kofaktorene jern og molybden, som gjør det mulig å fikserer N_2 i heterocystene, men forutsetningen er at det ikke utsettes for oksygen.

Heterocystene er spesialiserte celler som består av tre ekstra lag utenfor celleveggen og diffusjonen av oksygen inn i cellene blir dermed hundre ganger lavere enn diffusjonen i de vegetative cellene (Figur 12). De ekstra lagene folder seg som konvolutter og beskytter nitrogenase-komplekset mot oksygen (Enrique og Antonia, 2009). Når det i tillegg ikke utføres fotosyntese II i cellene, blir forholdene tilstrekkelig anaerobe for at nitrogenfiksering

skal kunne skje. Heterocystene har fotosyntese som bare drives av fotosystem I som ikke lager oksygen. Energien som kreves for å fiksure N_2 er større enn ved normalt nitrogenopptak, og det medfører at veksthastigheten i de vegetative cellene reduseres med en faktor på 2 (Hense og Beckmann, 2006). Trippelbindingen i N_2 er meget stabil, og reaksjonslikningen viser at det kreves mye energi for å få dannet to ammoniakkmolekyler:



Figur 12. Heterocysten er en spesialcelle som fikserer nitrogen. Det er enzymkomplekset nitrogenase med kofaktorene jern og molybden, som gjør det mulig å fiksure N_2 i heterocystene. Forutsetningen er at det ikke utsettes for oksygen. Bearbeidet fra spektrum.de.

Dersom det eksisterer heterocyster, vil det ikke skje et ordinært nitrogenopptak i de vegetative cellene. Heterocyster i et tidlig stadium vil kunne reverseres tilbake til vegetative celler, mens modne heterocyster ikke har denne evnen (Hense og Beckmann, 2006).

3.3.2 Vannblomst

Oppblomstring kan utvikles raskt dersom forholdene ligger til rette. Det er en misforståelse å tro at vannblomst forekommer når populasjonen er stor eller at det skyldes hurtig vekst i populasjonen. Fenomenet skyldes i hovedsak at det under gitte betingelser skjer en positiv oppdrift av cyanobakteriene i vannsøylen og at de flyter opp til overflaten der det blir en opphopning. En av forutsetningene er at forholdene er rolige, at det er lite turbulens i vannsøylen. Når cyanobakterier som er spredt i en flere meter vannsøyle flyter opp til

overflaten, kan de danne høy konsentrasjonen i overflaten. Det trenger altså ikke være høy konsentrasjon av cyanobakterier i vannsøylen for at vannblomst skal oppstå. Det forekommer oftest på sensommeren, men det kan forkomme året rundt, også i islagte vann. Store kolonier kan bevege seg raskt i vannsøylen. Om natten kan de flyte til overflaten slik at de om morgenen kan observeres som vannblomst. Ut over dagen synker de, og de blir ikke synlige før de neste morgen igjen har beveget seg opp til overflaten. Vannblomst kan også vedvare over lengre tid, både i dager og uker. Det er ikke nødvendigvis den samme populasjonen av cyanobakterier som da observeres i vannoverflaten. Datamodelleringer gir indikasjoner på at det kan være snakk om ulike populasjoner som i kortere tid oppholder seg i vannoverflaten (Walsby, 1994). Vannblomst forekommer ikke bare i vannoverflaten. Cyanobakterier som opptrer som individuelle filamenter beveger seg sakte i vannsøylen, og kan danne undervannsblomstring i metalimnion. Dette skjer i stratifiserte, klare oligotrofe innsjøer, og oppblomstringer i næringsfattige vann er ikke uvanlig i Norge. Hvis lystilgangen blir for lav i metalimnion, vil populasjonen flyte opp i epilimnion, noe som gjerne skjer i mer eutrofe innsjøer (Walsby mfl., 2004). Når temperaturen synker etter sommeren, vil vannsøylen blandes dypere. Dermed vil undervannsblomstringen i metalimnion bli mikset i vannsøylen og forflytte seg til epilimnion der den framstår som synlig vannblomst. Vannblomst i overflaten kan også skje hvis enkle filamenter aggregerer til kolonier slik at flytehastigheten øker i henhold til Stokes lov. I Gjersjøen har dette blitt observert som kortvarige oppblomstringer, der enkle filamenter av *Oscillatoria agardhii* (*Planktothrix agardhii*) aggregerer til større kolonier som fløt til overflaten om natten og sank om dagen og på veien samlet koloniene enda flere filamenter (Walsby mfl., 1983). Hvis det er turbulens i vannsøylen og de turbulente virvlene har en fart som er 15 ganger større enn flytehastigheten til cyanobakteriene, vil cyanobakteriene fordele seg jevnt i vannsøylen. Slike forhold gjør at de mister evnen til å danne vannblomst eller til å stratifisere i vannsøylen. Til tross for turbulens i vannsøylen vil cyanobakterier ha en fordel ved at oppdriften reduserer mye sedimentering (Whitton og Potts, 2000). Om turbulens forhindrer vannblomst direkte, kan det indirekte bidra til oppblomstringer. Det er et kjent fenomen at det skjer oppblomstringer etter at det har vært god miksing av vannsøylen f.eks. pga. kraftig vind. Forklaringen er at cyanobakteriene opparbeider en særdeles god oppdrift i tiden de oppholder seg i den miksedde vannsøylen blant annet pga. mindre lyseksposering (Wallace og Hamilton, 1999)

Det har tidligere vært antatt at et lavt forholdstall mellom nitrogen og fosfor (N: P) er typisk i innsjøer der cyanobakterier dominerer og danner vannblomst. Downing mfl. (2001) undersøkte datamateriale for 99 veldokumenterte tempererte innsjøer og tilbakeviste denne

antakelsen. Forekomsten av cyanobakterie-oppblomstring korrelerte derimot med konsentrasjonen av total nitrogen (TN) og enda bedre med total fosfor (TP), men best med total biomasse av alger (Downing mfl., 2001). Downing mfl. (2001) fant at ved lave konsentrasjoner av total P ($0-30 \mu\text{gL}^{-1}$) var dominansen av cyanobakterier under 10%. Ved konsentrasjoner tilsvarende $30-70 \mu\text{gL}^{-1}$ total P var dominansen av cyanobakterier 40%, mens det ved høye konsentrasjoner av total P ($100 \mu\text{gL}^{-1}$) var dominansen av cyanobakterier 80%. Forskningsresultatene viste at risikoen for oppblomstringer av cyanobakterier kunne knyttes til økt konsentrasjon av næringsstoffer og økt total biomasse av fytoplankton, og at det ville være mer hensiktsmessig å regulere fosforkonsentrasjonen fremfor nitrogenkonsentrasjonen (Downing mfl., 2001).

3.3.3 Konkurransfordeler

Grunnen til cyanobakterienes store utbredelse er at de har en rekke konkurransefordeler sammenliknet med annen fytoplankton.

De bruker liten vedlikeholdsenergi sammenliknet med andre konkurrerende mikroorganismer (Sejnová mfl., 2008). Siden de trenger lite energi til å opprettholde cellenes struktur og funksjon, kan den tilgjengelige energien i større grad brukes på selve veksten av cellen. Resultatet av dette er at de kan ha en relativ høyere veksthastighet enn annen fytoplankton når lysintensiteten er lav og gir lite energi (Gjølme, 2010). I tillegg inneholder de flere pigmenter som kan absorbere lys, og noen cyanobakterier inneholder også det røde pigmentet fykoerytrin, som absorberer det grønne lyset som trenger lengst ned i vannsøylen. De har også evne til å tilpasse seg lysforholdene de lever i ved å regulere produksjonen av de ulike pigmentene (Foy og Gibson, 1982). Disse lyshøstende pigmentene, fykobili-proteinene, overfører lysenergien til klorofyll a med 100 % effektivitet (Gjølme, 2010). Nok en fordel de kan ha i konkurransen med andre lyskrevende mikroorganismer, er skyggeeffekten som oppstår når de danner vannblomst. Dette er en fordel for cyanobakterier som ikke er så lyskrevende, men det er ikke gunstig for andre mer lyskrevende organismer (Matthijs et al., 2005).

Cyanobakterier er ikke utsatt for høyt beitetrykk fra zooplankton av ulike grunner. En av årsakene kan være deres evne til toksinproduksjon (Hense og Beckmann, 2006). Deres produksjon av ekstracellulære polysakkarider (EPS) gir de også en fysisk beskyttelse mot skadelige faktorer i det ytre miljøet som kan være av både fysisk og kjemisk art (Chug og Mathur, 2013). En annen årsak kan være selve størrelsen til koloniene. Zooplankton klarer

ikke håndtere store kolonier av *Aphanizomenon*, *Anabaena* og *Microcystis*, og beiting på mindre kolonier eller celletråder kan ha negativ effekt på fordøyelsesprosessen hos zooplankton (Whitton og Potts, 2000, Sejnhová mfl., 2008).

En annen fordel i konkurransen med andre organismer, er at de har evne til å lagre viktige metabolitter og næringsstoffer som nitrogen og særdeles fosfor. Dette er en fordel hvis det blir mangel på næringsstoffer i miljøet (Gjølme mfl., 2010).

De har også en konkurransefordel når det gjelder opptak av jern, Fe, som er et viktig element for vekst i en organisme. Jern er ofte en begrensende faktor fordi det er tungt løselig og lite tilgjengelig for fytoplanktonorganismer. Noen bakterier kan utnytte lave konsentrasjoner av jern ved at de skiller ut forbindelser, chelatorer, som binder jern og frakter det inn i cellen. Det at cyanobakterier kan produsere mange chelatorer, gir de en fordel i forhold til andre fytoplankton i konkurransen om jern (Gjølme mfl., 2010).

Et av de viktigste fortrinnene de har, er evnen til å regulere sin egen oppdrift pga. gassvesikler. Dette forhindrer at de sedimenterer, og gir de i tillegg mulighet til å plassere seg gunstig i vannsøylen med tanke på både optimale lysforhold og næringstilgang. En forutsetning for at stratifisering skal skje er at forholdene i vannsøylen er rolige. I rolige, stratifiserte innsjøer vil det etter hvert skje en utarming av næringsstoffene øverst i vannsøylen, mens det dypere i vannsøylen fortsatt vil være tilgang på næringsstoffer. Ved å kunne redusere oppdriften synker de ned til et mer næringsrikt område i vannsøylen (Walsby mfl., 1997). Hvor raskt cellene eller koloniene beveger seg i vannsøylen avhenger av deres størrelse og biomasse. For cyanobakterier som aggregerer og som danner kolonier, øker størrelsen/biomassen og de vil ha en fordel ved at de beveger seg hurtigere i vannsøylen i forhold til ikke-kolonidannende cyanobakterier. Den vertikale bevegelseshastighet for cyanobakterier varierer fra $7 \mu\text{ms}^{-1}$ for *Planktothrix rubescens* og opp til $3000 \mu\text{m s}^{-1}$ for *Microcystis aeruginosa* (Callieri mfl., 2012). Cyanobakterier med gassvesikler varierer i form og størrelse og det finnes både encellede som er under $1 \mu\text{m}$ lange, og flercellede som danner celletråder med eller uten forgreininger og som kan bli flere cm lange. Avhengig av slekt og art, kan celletrådene være tvinnede, rette eller spiralformede, og de kan endre morfologien til en sekundærform ved aggregering. Denne aggregeringen resulterer ikke bare i økt biomasse, men har også betydning for prosesser knyttet til næringsopptak, lyspåvirkning, gassutveksling, oppdrift og hvor utsatt de er for beiting (Whitton og Potts, 2000). Slektene *Microcystis*, *Anabaena* og *Aphanizomenon* danner kolonier i den vegetative perioden og er derfor ikke homogent fordelt i vannsøylen. Slekten *Planktothrix* er en slekt som ikke danner

kolonier før tettheten i populasjonen blir så stor at de aggregerer. Celletrådene til *Planktothrix* er ganske små, og den vertikale bevegelsen blir derfor ikke betydelig og rask for de enkelte filamentene. Det er vannsirkulasjonen som hovedsakelig sprer disse i vannsøylen, og det er en ganske homogen spredning i epilimnion (Mur mfl., 1999). I termisk stratifiserte innsjøer er det mulig å danne stabile lag med populasjoner av cyanobakterier i metalimnion og det er i disse lagene at tettheten kan bli så stor at de aggregerer til kolonier. *Planktothrix rubescens* er en art som er godt tilpasset lysforholdene dypt i vannsøylen, siden arten inneholder det røde pigmentet fykoerytrin. Det finnes også andre røde varianter i slekten *Planktothrix* som kan danne populasjoner i metalimnion (Mur mfl., 1999).

I tempererte strøk synker temperaturen på høsten og forbruket av de akkumulerte karbohydratene i cellene reduseres slik at tettheten øker og de synker til bunnen der de overvintrer. Under overvintringen forbrukes karbohydratene sakte gjennom respirasjon eller fermentering, og på våren vil tettheten til små kolonier eller encellede cyanobakterier være tilstrekkelig lav til at de kan få positiv oppdrift og flyte opp i vannsøylen (Mur mfl., 1999).

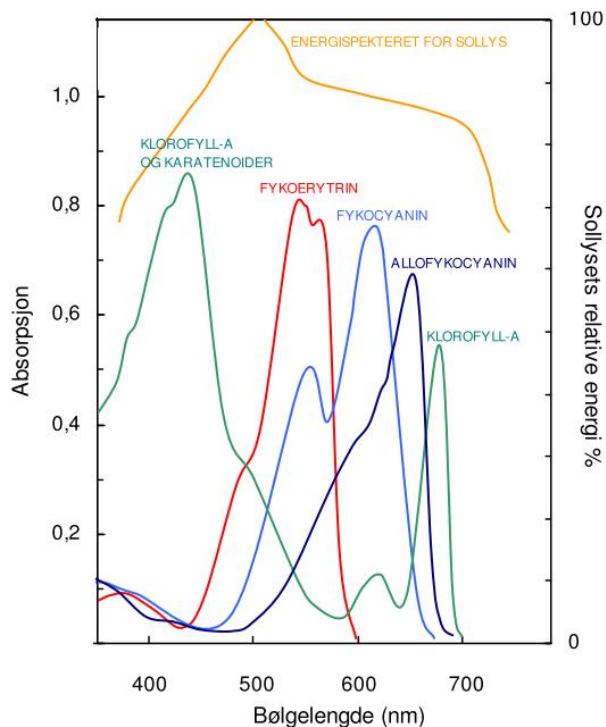
3.4 Fotosyntese og respirasjon hos cyanobakterier.

Cyanobakterier kan utføre fotosyntese og respirasjon samtidig og i samme rom i cellen, og dette er ganske unikt. Fotosyntese og respirasjon krever elektrontransport som langt på vei katalyseres i membraner. I cyanobakterier er det to atskilte membransystemer, thylakoidmembranen og den cytoplasmiske membranen. Thylakoidmembranen inneholder klorofyll a, og de lyshøstende pigmentene, fykobilisomene, er festet på membranen som vender ut mot cytosol. Den cytoplasmiske membranen inneholder karotenoidpigment, men ikke klorofyll eller fykobilisomer. Thylakoidmembranene er det indre membransystemet som separerer cytoplasma fra thylakoid lumen. Thylakoidlumen er området mellom to thylakoidmembraner. I lumen avsettes protoner fra elektrontransportkjedene i thylakoidene og denne protongradienten over thylakoidene brukes til å lage ATP. ATP kan anvendes for fiksering av CO₂ eller brukes til andre celleprosesser (Vermaas, 2001). I thylakoidmembranene er det elektrontransportkjeder for både fotosyntese og respirasjon. Elektrontransportkjedene ikke bare krysser hverandre, men utnytter også delvis de samme komponentene i thylakoidmembranen. Mellom den cytoplasmiske membranen og den ytre membranen ligger periplasma, og området er karakteristisk for gram-negative bakterier. I den cytoplasmiske membranen foregår det en elektrontransportkjede kun for respirasjon og ikke for fotosyntese, siden membranen ikke inneholder klorofyll. I respirasjonen hos

cyanobakterier er komponenter som NADPH, plastokinon, plastocyanin, cytokrom *c553* og cytokromkomplekset *b_{6f}* involvert i respirasjonen, og ikke bare i fotosystem 1 (FSI) og fotosystem 2 (FSII), som er tilfelle i planter (Vermaas, 2001). F.eks. vil så å si all elektronoverføring gå gjennom cytokromkomplekset *b_{6f}*. NADPH brukes hovedsakelig i karbonfikseringsprosessen. Hvis det er rikelig med lys vil elektrontransportkjeden i fotosyntesen ha en mye høyere kapasitet av elektronflyt enn respirasjonskjedens elektronflyt.

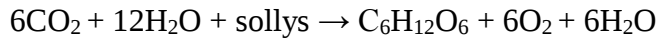
3.4.1 Fotosyntese og lyshøstende pigmenter.

I tillegg til at cyanobakterier inneholder pigmentet klorofyll a og karotenoider, inneholder de også andre lyshøstende pigmenter, såkalte fykobiliproteiner. Fykoerytrin, fykocyanin og allofykocyanin har sine typiske absorpsjonstopper, Figur 13, og kan høste lysenergien som ligger i det grønne, gule og oransje området i lysspekteret. Dette lyset trenger dypere ned i vannsøylen der cyanobakterier kan drive fotosyntese i motsetning til andre organismer som mangler disse pigmentene. Pigmentene har også den egenskapen at de skjermer og beskytter klorofyllet fra ødeleggende lysenergi (Gjølme mfl., 2010).

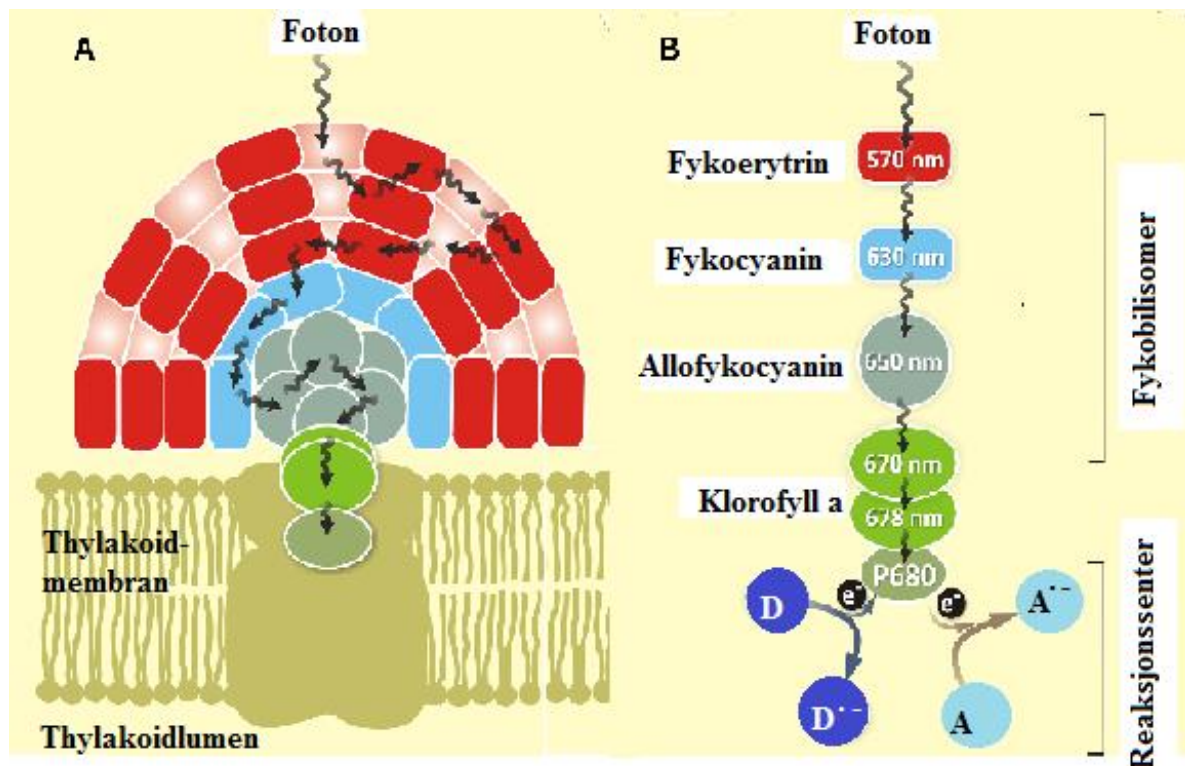


Figur 13 Absorpsjonsspekteret til cyanobakterie som viser absorpsjon for de ulike pigmentene (Gjølme mfl., 2010).

Ved fotosyntese dannes organiske forbindelser fra vann og karbondioksid med energien fra absorbert sollys. En del av den kjemiske energien som dannes brukes til assimilasjon av uorganisk CO₂ til ulike produkter, som for eksempel karbohydrater, aminosyrer og nitrogenforbindelser. Hvis prosessen forenkles, kan reaksjonslikningen for fotosyntese skrives slik (Kalff, 2002):



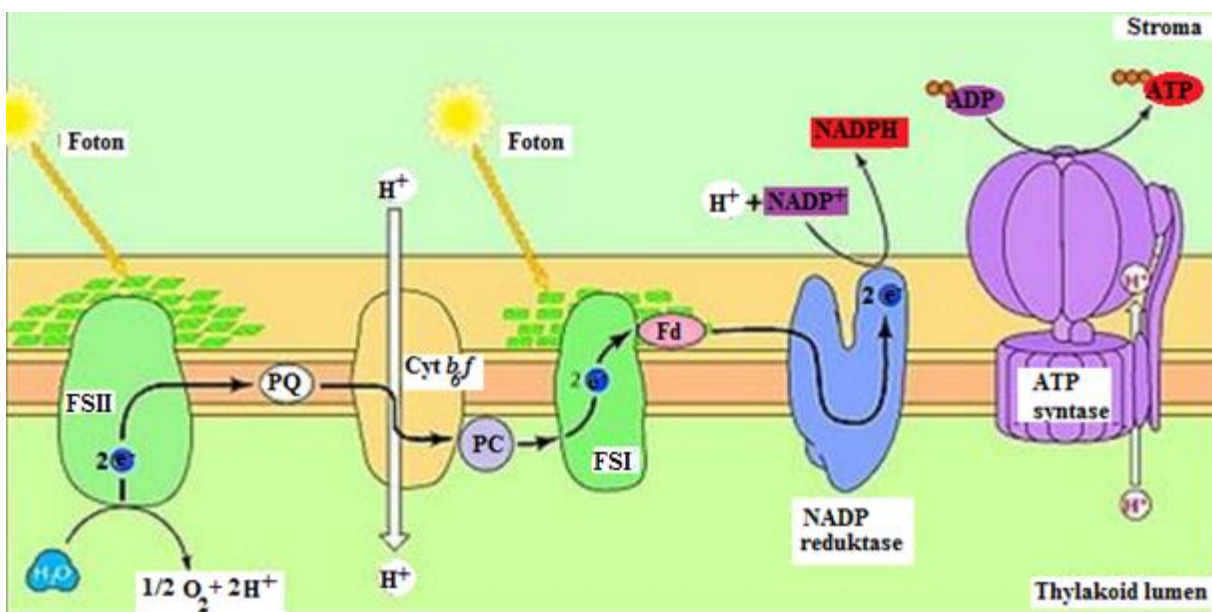
På thylakoidmembranens overflate som vender mot cytosol er det festet fykobilisomer som er store proteinkomplekser, Figur 14. Disse består av antennepigmenter, fykobiliproteiner, som absorberer lys og som det finnes tre typer av: allofykocyanin, fykocyanin og fykoerytrin. Fykobilisomer har en kjerne av allofykocyanin, med utstikkere av fykocyanin og ytterst eventuelt fykoerytrin (Grossman mfl., 1993).



Figur 14 Fykobilisomet med de lyshøstende pigmentene overfører lysenergien med 100% effektivitet til reaksjonscenteret (RC). Alle fykobilisomer har pigmentene allofykocyanin og fykocyanin, mens bare noen inneholder fykoerytrin. Bearbeidet fra journal.frontiersin.org.

Energien fra det absorberte fotonet passerer gjennom antennemolekylene:
fykoerytrin → fykocyanin → allofykocyanin. Energien overføres med 100% effektivitet til

klorofyll a i reaksjonscenteret for fotosystem II, som kalles P680 siden det kan absorbere lys opp til 680nm. P680 blir eksitert og sender et elektron videre i elektrontransportkjeden. Den ledige plassen fylles opp med et nytt elektron som vann bidrar med når det spaltes: $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ + \text{O}_2$. Konsentrasjonen av H^+ i thylakoidlumen øker og oksygenet diffunderer ut av cellen. Det eksiterte elektronets energi brukes til å flytte H^+ fra cytosol til thylakoidlumen, ved at H^+ binder seg til proteinet plastokinon, PQ. Elektronet transporteres videre til cytokromkomplekset, b_6f , og videre til en løselig elektronbærer som kan være plastocyanin, PQ, eller cytokrom c553 (Vermaas, 2001). Begge disse kan redusere klorofyllet i reaksjonscenteret til fotosystem I. FSI sitt reaksjonscenter eksiterer elektroner ved en bølgelengde opptil 700nm, og blir derfor kalt P700. Det overførte elektronet blir eksitert av lysenergi fraktet til reaksjonscenteret, P700, via antennemolekylene slik som i FSII. Det eksiterte elektronet transporteres videre og ender opp på det elektronbærende proteinet ferredoksin. Ferredoksin kan gi elektroner videre til NADP-reduktase som katalyserer reaksjonen mellom NADP^+ og H^+ og som danner NADPH. Over thylakoidmembranen er det en H^+ -gradient som fører til en utstrømming av H^+ og energien fra utstrømningen av H^+ brukes av enzymet ATP- syntese som binder ADP og P og lager ATP. Dersom det er behov for mer ATP kan elektronet transporteres fra ferredoksin i FSI tilbake til FSII og brukes om igjen og det blir laget mer ATP (Ganf og Oliver, 1982), Figur 15.



Figur 15 Fotosyntese i cyanobakterier i thylakoidmembranen. Bearbeidet fra <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9861/figure/A1672/?report=objectonly>.

Forholdet mellom FSI og FSII er hos noen cyanobakterier mye høyere enn 1, noe som avviker fra høyere planter som har lik mengde FSI og FS2. Ved bruk av energien lagret i ATP og NADPH som dannes i lysreaksjonen omdannes karbonet i CO₂ til større organiske molekyler (Vermaas, 2001). Noen arter kan endre fargepigmenter slik at de tilpasser seg egenskapene til lyset der de oppholder seg og gror. Hvis cellene blir eksponert for rødt lys, vil de produsere mer blått pigment, fykocyanin, og når de eksponeres for grønt lys, vil det røde pigmentet fykoerytrin syntetiseres. Ved å danne en ny utgave av fykobilisomet vil de kunne høste mer lys i habitatet de lever i (Grossman mfl., 1993). Når lysintensiteten øker avtar mengde pigmenter, dette gjelder både klorofyll a og fykobiliproteiner (Foy and Gibson, 1982).

En del cyanobakterier kan utføre fotosyntese ved å bruke H₂S som elektrondonor i stedet for H₂O. Det dannes ikke oksygen i denne fotosyntesen og miljøet er anaerobt. Det kreves mindre energi å spalte H₂S enn H₂O og dette gir de en fordel sammen med at de har et lavt behov for vedlikeholdsenergi (Gjølme mfl., 2010).

3.4.2 Hemming av fotosyntese

Både lysintensitet, eksponeringstiden og strålingstype har betydning for hemming av fotosyntesen. Fotoinhibering er en strategi for å beskytte fotosynteseapparatet ved en reversibel reduksjon av elektronstrømmen i fotosyntesesystem II (Wu mfl., 2011). Mens inhibering pga. UV-lys er veldokumentert, er det mindre forskning på inhibering knyttet til synlig lys. Whitelam og Cold (1983) gjorde en studie på *Microcystis aeruginosa* som viste at fotosyntesen ble hemmet når lysintensiteten ble høyere enn 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ og at det røde lysets bølgelengder hadde størst betydning for inhibering av fotosyntesen. *Microcystis aeruginosa* inneholder ikke fykoerytrin, men fykocyanin, allofykocyanin og klorofyll a, slik at det blå lyset ikke eksiterer fotosystem II i noen særlig grad. Dette har sammenheng med at det er pigmentene i fykobilisomene som er involvert i fotosystem II, mens klorofyll a, som eksiteres av blått lys hører til i fotosystem I (Whitelam og Cold, 1983). For arter av *Anabaena* har det vist seg at det er det blå lyset som er mest involvert i inhibering av fotosyntesen. Det er sterke indikasjoner på at fotosyntesehemming i *M. aeruginosa* celler skyldes skade eller blokkering i elektrontransportkjeden i fotosystem II (Whitelam og Cold, 1983). Visser et al. (1997) studerte en stamme av *Microcystis* sp som viste sterk inhibering når lysintensiteten oversteg 278 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Visser mfl., 1996). Studier på *Microcystis* har vist at kolonidannelse har en beskyttende effekt på cellene med tanke på fotoinhibering (Wu mfl., 2011).

Under ekstreme forhold kan fotoinhibering føre til foto-oksidativ ødeleggelse av cellekomponenter og celledød (Whitelam og Cold, 1983). Lys kan gi direkte skade på fotosystem II, mens oksidativt stress hemmer selve reparasjonen av fotosystem II. Oksidativt stress forekommer når for mye lys absorberes eller ved begrenset tilgang på CO₂ eller NADP og det dannes da reaktive oksygenforbindelser (ROS). En slik forbindelse er oksygen i eksitert tilstand og som undertrykker produksjonen av proteiner og da særdeles D1-proteinet som er nødvendig for reparasjon av fotosystem II (Nishiyama mfl., 2005).

Selv om cyanobakterier i utgangspunktet er lysømfintlige, kan de også tolerere forholdsvis mye lysenergi. Dette kan skyldes en økt produksjon av karotenoider, som kan ha en lysskjermende effekt (Gjølme og Utkilen 2010). Siden disse pigmentene, ligger i den cytoplasmisk membranen, er det sannsynlig at de lyshøstende pigmentene som er festet til thylakoid-membranene skjermes og blir noe mindre utsatt for lys. Fotorespirasjon er en annen prosess som beskytter mot fotoinhibering. Selv om denne prosessen i motsetning til vanlig respirasjon ikke gir energi, så brukes det lysenergi som ellers kunne skadet fotosyntesesystemene.

3.5 Gassvesikler

Gassvesikler finnes så å si utelukkende i vannlevende organismer. Gassvesikler gir beskyttelse mot lys ved at organismen regulerer oppdrift. Vesiklene påvirker tettheten til cellene og gir organismene mulighet til å holde seg flytende, og å bevege seg opp og ned i vannsøylen. Det er cellenes tetthet i forhold til vannets tetthet (ca. 980 kgm⁻²) som bestemmer om oppdriften til cyanobakterier er positiv eller negativ. Dersom det er mange nok gassvesikler, vil organismen flyte opp pga. positiv oppdrift. Dersom antall vesikler reduseres, eller vesiklene opptar et mindre volum pga. cellevekst, vil oppdriften kunne bli negativ og organismen vil synke (Staley, 1980). Dersom 3-10% av cellevolumet består av gass, vil det være nok til å gi cellen en positiv oppdrift (Pfeifer, 2012).

Dominansen av cyanobakterier med gassvesikler blir ofte forklart ved konkurransefordelene de har ved å kunne regulere oppdriften i vannsøylen. Ved å regulere oppdriften oppnås ulike fordeler som f.eks. at sedimentasjonstapet reduseres, lystilgangen reguleres, eller økt næringsinnhold i vannsøylen blir tilgjengelig (Oliver mfl., 2012). Det er flere mekanismer som regulerer oppdriften til cyanobakterier, som f.eks. produksjonen av gassvesikler, kollaps av gassvesikler, cellenes ballast og cellene vekst (Walsby, 1994). For å forstå mekanismene til

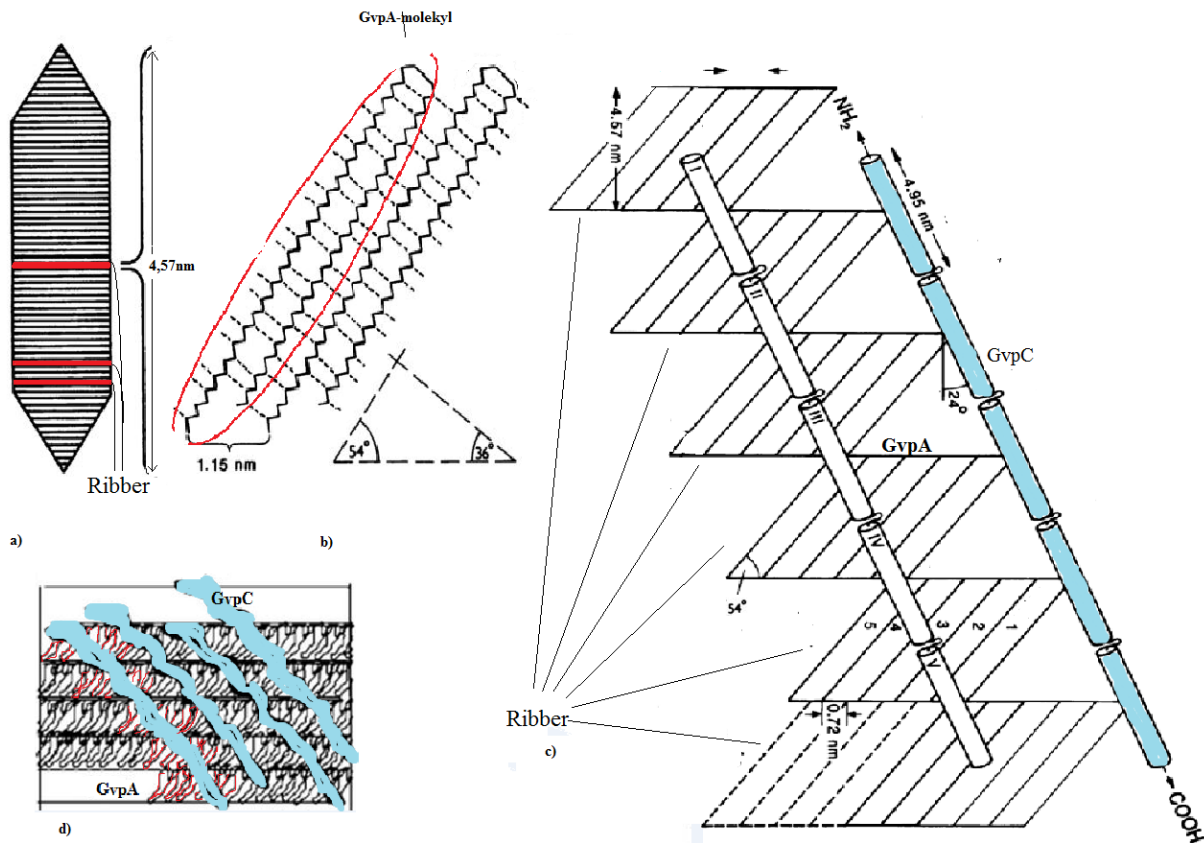
reguleringen av oppdriften er det nyttig å kjenne til strukturen og egenskapene til gassvesiklene og hvordan de dannes.

Kunnskapen om at enkelte vannlevende organismer er utstyrt med gassvesikler er omtrent 100 år gammel, og gassvesiklenes funksjon ble tidlig knyttet til både oppdrift og lysskjerming. Ved hjelp av lysmikroskop ble det observert at gassvesiklene forsvant under høyt trykk. I 1965 lanserte Bowen og Jensen sin forskning om gassvesiklenes morfologi og egenskaper, og det var de som innførte begrepet gassvesikler. Ved å bruke elektronmikroskop kunne de vise at vesiklene var plassert i avgrensede områder, gassvakuoler, hvor de var stablet/pakket meget effektivt heksagonalt som i en bikube. Selve gassvesiklene var formet som sylindre med koniske endestykker. De målte diameteren i sylindrene til 75nm, mens lengdene var opptil 1000nm. Veggene viste seg å være dannet av kun ett proteinlag som målte 2nm. Ved et trykk lik 7 bar observerte de at sylindrene kollapset (Walsby, 1994).

3.5.1 Gassvesiklenes oppbygging.

Gassvesiklene er sylinderformede med koniske ender. Gassmolekyler kan diffundere igjennom gassvesikkel-veggen som består hovedsakelig av proteinene GvpA og GvpC. Produksjonen av gassvesikler er kostnadskrevende for en celle med tanke på energi og proteinproduksjon. Produksjonen reguleres genetisk og det er sterke indikasjoner på at det er 14 *gvp* gener som innehar informasjonen som skal til for å produsere gassvesikler (Walsby, 1994) og det antas å være 8-14 Gvp-proteiner som er involvert i dannelsen av disse (Pfeifer, 2012). Gassvesiklenes vegg er ca. 2nm og strukturen i celleveggen dannes av et enkelt lag av proteinet GvpA (7-8 kDa), mens det større proteinet GvpC (22 kDa) virker stabiliserende på strukturen og er festet til veggens overflate ut mot cytosol (Walsby, 1994, Pfeifer, 2006). GvpA molekylene ligger etter hverandre i ribber i intervaller på 1,15nm og med en vinkel lik 54° i forhold til ribbaksen. Ribbene ligger parallelt med hverandre i vesikkelens lengderetning og hver ribb er 4,6nm brede. Ribbene ligger vinkelrett på lengdeaksen. Det antas at det er en forskyving av GvpA- molekylene på 0,72nm i forhold til GvpA-molekylene i de nærliggende ribbene. Denne konstruksjonen kan sammenliknes med hvordan en vegg av murstein bygges med tanke på styrke og stabilitet. GvpC molekylet «limer sammen» 5 ribber og hele 25 GvpA molekyler. Grunnen til dette er at GvpC molekylet ligger 24° på ribbene og dermed kommer i kontakt med totalt 25 GvpC molekyler (Figur 16) (Walsby, 1994).

Proteinet GvpA danner en buet hydrofob indre overflate, mens den ytre overflaten derimot er hydrofil pga. det hydrofile GvpC molekylet (Walsby, 1994, Strunk mfl., 2011). Det er gjort kvantitative analyser på *Anabaena flos-aquae* og *Microcystis* der proteinene er blitt separert og analysert. Resultatene viser at GvpC utgjør kun 2,9% av proteinmolekylene og 8,2 % av massen (Hayes mfl., 1988). Sammen med proteinet GvpC, forekommer det fem andre Gvp-proteiner i mindre mengder på utsidens overflate (Pfeifer, 2006). GvpC stabiliserer og styrker strukturen til vesiklene (Hayes mfl., 1992). Det er foretatt analyse av vesikler fra *Anabaena flos-aquae* hvor GvpC-proteinene ble fjernet slik at gassvesiklene utelukkende besto av GvpA. Det kritiske trykket til *Anabaena flos-aquae* gikk ned fra 0,557 til 0,190 MPa, når vesiklene ble strippet for GvpC-proteinet. Ved å tilføre GvpC igjen til vesiklene, fikk de tilbake 96% av den opprinnelige styrken. Metoden og resultatet ga tydelige indikasjoner på at GvpC proteinene lå på utsiden av vesiklene og at funksjonen var å styrke strukturen (Hayes mfl., 1992) Det er observert et forhold mellom GvpA og GvpC lik 25:1, og det antas derfor at hvert GvpC-molekylet vil være i kontakt med fem GvpA-molekyl i henholdsvis fem ribber (Figur 16) (A. E. Walsby, 1994). Den komplette krystallografiske strukturen til proteinene er dessverre ikke kjent, siden GvpA ikke lar seg løse slik at det kan foretas en krystallinsk røntgen diffraksjonsanalyse av proteinet (Walsby, 1994). I *Anabaena flos-aquae* viste det seg at 90% av vesiklene utgjorde proteinet GvpA, mens GvpC, utgjorde de resterende 10% (Walsby, 1994).



Figur 16 a) Gassevesikler er sylinderformet med koniske ender med ribber som ligger parallelt i lengderetningen b) Ribbene består av GvpA-proteiner, c) GvpC molekylene ligger på utsiden av ribbene, d) GvpC fungerer som et lim på utsiden av GvpA og forsterker veggen Bearbeidet fra Walsby, 1994.

3.5.2 Gassvesikkelkollaps

I *Anabaena* er tettheten til gassvakuolene målt til å være ca. $\frac{1}{4}$ av vannets tetthet og det viser at gassvakuoler bidrar til å gi et positivt bidrag til oppdriften.

Selv om gassmolekyler diffunderer gjennom gassvesikkelveggen så er veggen rigid og kan ikke bli oppblåst. Den kan derimot kollapse pga. trykkpåkjenning, og når gassvesikkelen først har kollapset, kan den ikke repareres. Kollaps skjer ved et kritisk trykk, p_c , som karakteriseres ved at 50% av vesiklene i en cyanobakterie kollapser (Walsby, 1994) (Formel 16).

Formel 16

$p_c = 275(r)^{-1.67}$ MPa (Walsby, 1994), der r er radius til gassvesikkelen målt i nanometer.

Det kritiske trykket varierer avhengig av proteinets mekaniske egenskap og diameteren i den sylindriske strukturen. Jo smalere diameteren i sylindrene er, desto høyere trykk tåler de før de kollapser. Det betyr at styrken til gassvesiklene avtar med bredden, slik at brede gassvesikler kollapser lettere enn smale gassvesikler. Gassvesiklene kan kollapse dersom det hydrostatiske trykket eller turgortrykket blir for stort. Det hydrostatiske trykket øker med 0.1 MPa pr. 10 meter ned i en vannsøyle. Når cyanobakterier synker i vannsøylen eller blir trukket nedover i vannsøylen pga. av miksing kan det høye hydrostatiske trykket medvirke til vesikkelkollaps. Turgortrykk kan variere fra 0- 0,5 MPa for ulike organismer og kan være en årsak til gassvesikkel-kollaps. Turgortrykket øker når det produseres organiske stoffer under fotosyntesen og ved at det akkumuleres polyfosfat granuler. I tillegg vil opptak av ioner som f.eks. K^+ gi økt turgortrykk. Resultater viser at opptaket av K^+ hos *Anabaena flos-aquae* er lysavhengig og at det økte opptaket kan medføre kollaps. Det er stort sett bare slektene *Anabaena* og *Aphanizomenon* som har svake nok gassvesikler til at kollaps skjer i et naturlig miljø, men også i disse tilfellene er cellenes ballast av størst betydning for tettheten til cellene (Kromkamp og Walsby, 1990).

Det kritiske trykket varierer fra 0,1 til 3,5 MPa avhengig av type organisme. For cyanobakterier som lever i ferskvann og som kan danne vannblomst, ligger det kritiske trykket mellom 0.35 og 0,95 MPa. Walsby (1994) viste at gassvesikler isolert fra *Anabaena flos aquae* hadde et kritisk trykk i området 0,45-0,85 MPa, mens for en naturlig populasjon av *Microcystis aeruginosa* varierte det kritiske trykket fra 0,5-1,2 MPa. Gjennomsnittlige verdier for kritisk trykk, bredde og lengde for noen slekter kan ses i (Tabell 3), (Walsby og Bleything, 1988)

Tabell 3 Gjennomsnittlige verdier for kritisk trykk og lengde og bredde for ulike slekter av cyanobakterier (Walsby og Bleything, 1988).

Slekter av cyanobakterier	Kritisk trykk, p_c (MPa)	Vesikkelbredde (nm)	Vesikkel-lengde (nm)
<i>Anabaena flos-aquae</i>	0,61	84,0	494,0
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	0,60	77,7	686,5
<i>Microcystis</i> sp.	0,77	65,2	430,2
<i>Planktothrix agardhii</i> (grønn)	0,71	66,8	407,2
<i>Planktothrix rubescens</i> (rød)	0,99	62,0	337,3

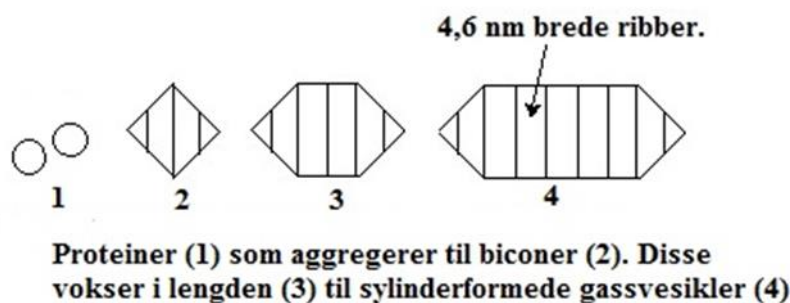
Det er ikke bare variasjon mellom ulike slekter, men også imellom arter og også stammer av arter, når det kommer til lengde og bredde på gassvesiklene. Bredere gassvesikler gir mer effektiv oppdrift per proteinenhet enn smalere gassvesikler. Dette skyldes forholdet mellom overflateareal og volum som er mindre for brede enn for smalere gassvesikler. Lengden har ikke betydning for styrken, men bidrar til økt volum og dermed økt oppdrift. Det er allikevel sjelden at lengden er over 1000nm og det antas at årsaken til dette er det store behovet for proteiner og at produksjonen er for energikrevende (Oliver mfl., 2012). Walsby (1994) fant at den optimale lengden var ca. fem ganger bredden. Variasjonene i gassvesiklenes bredde har en sammenheng med miljøene som de lever i, og er et resultat av tilpasning til miljøet gjennom evolusjon. Cyanobakterier som enten lever dypt i vannsøylen og dermed utsettes for høyt hydrostatisk trykk, eller høyt turgortrykk, har smale gassvesikler. *Planktothrix agardhii* som gjerne finnes i dype innsjøer har en gassvesikkelbredde på ca. 62nm, mens cyanobakterier i grunnere innsjøer som *Microcystis aeruginosa* har ca. 67nm, *Anabaena flos-aquae* har ca. 84nm og *Aphanizomenon flos-aquae* har ca. 78nm i bredde på gassvesiklene (Walsby og Bleything, 1988).

3.5.3 Mengde gassvesikler

Mengde gassvesikler avhenger av at genene for syntetisering uttrykkes. Cellene må også ha nok energi og nok aminosyrer for produksjon av gassvesikler. Det er også vist at lys påvirker produksjonen av gassvesikler i *Anabaena flos-aquae*, *Planktothrix* sp og *Microcystis* sp ved at det dannes færre gassvesikler ved høyere lysintensitet enn ved lav lysintensitet (Pfeifer, 2012). Det er altså både molekylære og fysiologiske faktorer som regulerer mengden av gassvesikler (Oliver mfl., 2012). Produksjonen av gassvesikler skjer raskt og tar ca. 12 timer. Syntesen starter ved at proteiner, hovedsakelig GvpA og GvpC, aggregerer og danner bikoner med koniske ender. Bikonene vokser først i bredden og når vesikkelens diameter er tilfredsstillende, vokser den videre i lengden (Figur 17).

Ved cellevekst vil uttynning av gassvesikler kunne skje, enten ved celledeling eller ved at selve cellevolumet blir større og resultatet blir at oppdriften reduseres. Utkilen mfl. (1985) fant i sine studier av *Planktothrix agardhii*, at når lyseksposeringen skiftet fra lav til høyere lysintensitet, mistet de oppdrift fordi det ikke ble produsert tilstrekkelige nye gassvesikler når cellevolumet økte pga. cellevekst ved økt fotosyntese.

Det er gjort studier som viser at hele settet av gener og den overordnede strukturen av gassvesikkelklyngen ikke er nødvendig for å utvikle gassvesikler i bakterieceller. To gener, *gvpA* og *gvpC20Ψ*, er tilstrekkelig for å syntetisere et operon som kan utvikle gassvesiklene i bakterieceller. Dette ble vist i et studium der en isolerte en genklynge med *gvpA* and *gvpC20Ψ* fra *Planktothrix rubescens* som ble satt inn i *E.coli* bakterier og som produserte gassvesikler (Wang mfl., 2014).



Figur 17 Gassvesikler er bygd opp av proteiner og vokser fra små bikoner til sylindervermede gassvesikler med koniske ender. Bearbeidet fra Pfeifer, 2006.

3.6 Ballast

Gassvesikkelkollaps, produksjon av nye gassvesikler og uttynning av gassvesikler ved cellevekst er faktorer som regulerer oppdriften til cyanobakterier. Cyanobakterier kan bli eksponert for økte konsentrasjoner av næringsstoffer som for eksempel under forflytning i vannsøylen. Under slike fysiologiske tilstander kan opptaket av et næringsstoffer bli så stort at de ikke rekker å bli assimilert til proteiner og nukleinsyrer. Løsningen på dette misforholdet mellom opptak og forbruk er å lagre stoffene intracellulært som polymerere som kan assimileres ved behov på et senere tidspunkt. Polymerlagre av karbon og energi, inkluderer glykogen, stivelse og polyhydroxyalkanoater (PHA) som er lineære polyestere laget av glukose. Fosfor lagres som polyfosfat og nitrogen lagres i cyanophysin. Hvis man studerer f.eks. *Planktothrix agardhii* under en daglig lys-mørke syklus, vil det fikserte karbonet i lysperioden umiddelbart bli brukt til vekst ved at det produseres proteiner og nukleinsyrer, eller det blir lagret som glykogen. Under mørkeperioden blir glykogenet både brukt som energikilde og som karbonkilde til å danne proteiner og nukleinsyrer (Schmidt og Schaechter, 2012).

Selv om både gassvesikkelkollaps og mengde gassvesikler påvirker oppdriften, er det cellenes ballast som har størst betydning for cellenes oppdrift, og det er akkumuleringen av karbohydrater i cellene som påvirker ballasten mest (Walsby, 1994).

Siden tettheten til karbohydrater er ca. 1550 kg/m^3 og proteiner har en tetthet lik 1300 kg/m^3 vil disse kunne utgjøre betydelig ballast med tanke på at vannets tetthet er litt under 1000 kg/m^3 (Chu mfl., 2007). Korrelasjonen mellom tap av oppdrift og øking i karbohydratinhold i cellene er veldokumentert i flere studier og gjelder for flere slekter blant annet *Planktothrix*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Microcystis*. *Microcystis*-celler som vokste ved 20°C under lysforhold tilsvarende naturlig lys-mørke syklus viste et daglig mønster. De mistet oppdrift etter 8 timer med lyseksponering og fotosyntese, men fikk ny oppdrift på slutten av mørkeperioden etter at karbohydratene var metabolisert. De fikk ikke tilbake oppdriften når temperaturen kom ned i 8°C , sannsynligvis pga. seinere metabolisme av karbohydrater ved så lav temperatur (Walsby, 1994). Resultater fra laboratoriestudier stemmer overens med feltstudier av *Microcystis*-populasjoner. I de varme månedene med rolige værforhold er populasjonen synlig på morgenen, men forsvinner ut over dagen for igjen å bli synlige neste morgen. At dette daglige mønsteret forsvinner ut over høsten, kan ut i fra studiene forklares med at ballasten av karbohydrater vedvarer fordi metabolismen av karbohydratene blir for lav pga. lav temperatur. Visser mfl, (1995) viste at kolonier av *Microcystis* mistet oppdrift når

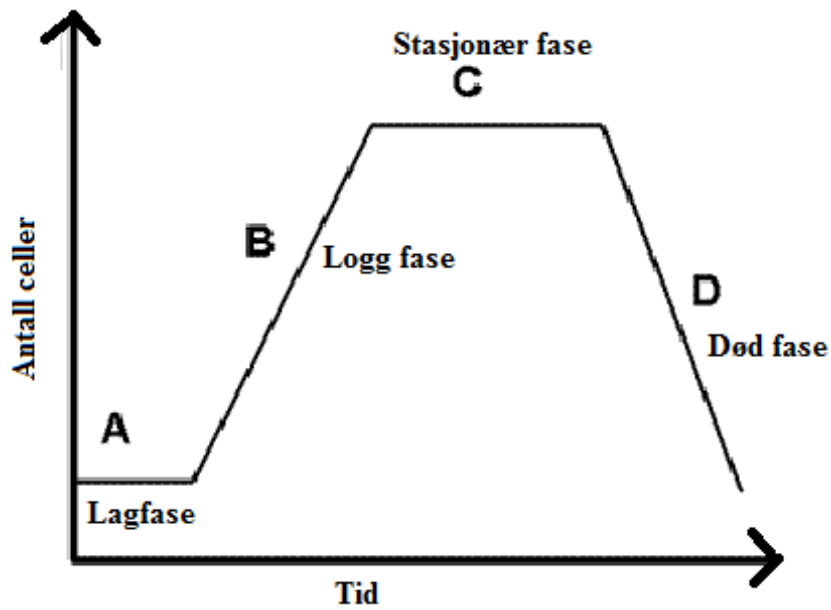
temperaturen sank fra 20°C til inkubering i 15,3 ,13,0 og 10,5°C. Gassvesikkelvolumet i cellene holdt seg konstant under inkubering, men glykogeninnholdet i cellene økte. Denne økningen skyldes lavere produksjon av proteiner i lysperioden ved lavere temperatur. Selv om fotosyntesen ble redusert når temperaturen gikk ned, ble mer CO₂ fiksert og lagret som glukose. Siden respirasjonen også ble redusert ved lavere temperatur, ble glykogen akkumulert i cellene. Etter 1 uke med inkubering i lav temperatur var fotosyntesen som ble målt ved 20°C redusert med 10,1%, mens respirasjonen sank med 1,8%. Dette resultatet indikerer at høy konsentrasjon av glykogen hemmer fotosyntese og stimulerer respirasjon (Visser mfl., 1995).

4 Faktorer som påvirker oppdriften, hva sier forskningen

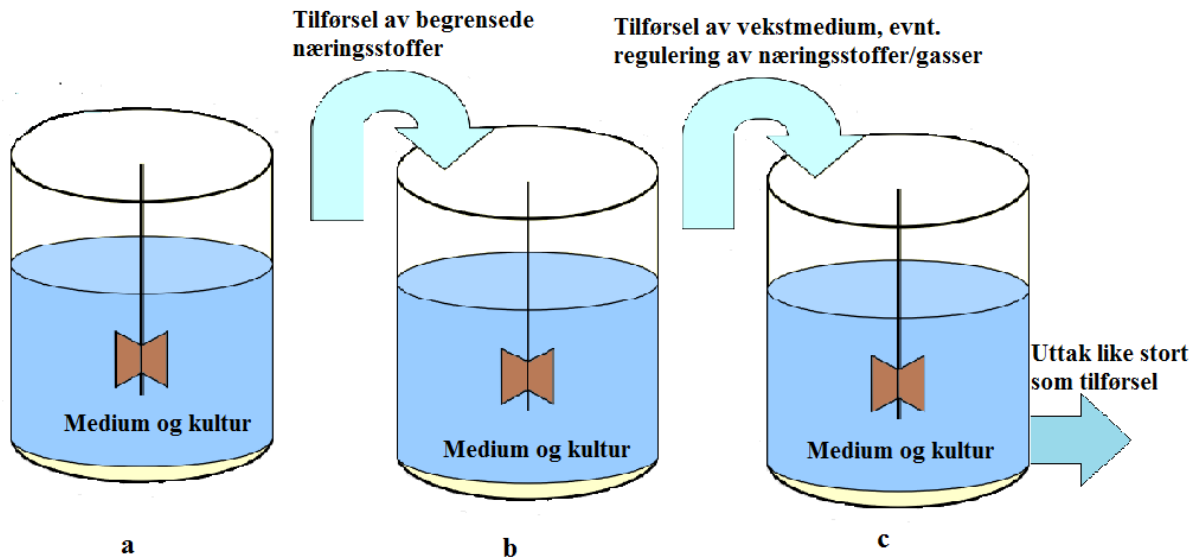
Cyanobakterier kan regulere oppdriften ved hjelp av flere mekanismer. Oppdriften påvirkes blant annet ved at det skjer fysiologiske endringer i cyanobakteriene som respons på miljøforandringer. Denne reguleringen av oppdriften er blitt sett på som et virkemiddel for cyanobakterier til å oppnå riktig lystilgang og næringstilgang, og disse er som oftest adskilt i stratifiserte innsjøer der næringstilgangen er større dypere i vannsøylen. Positiv oppdrift kan være et virkemiddel for å nå overflaten der lystilgangen fremmer fotosyntese. Negativ oppdrift kan forhindre fotoinhibering og gi bedre næringstilgang lenger ned i vannsøylen (Oliver mfl., 2012). Eksempler på faktorer som påvirker oppdriften kan f.eks. være lagring av lipider med lav tetthet, utsondring av slimsekret, forandring av karbohydratinnhold, proteininnhold og ione-innhold, eller ved å endre innholdet av gassvesikler. Mengde gassvesikler varierer gjennom livssyklusen til en celle, og under celledeling vil gassvesiklene bli uttynnet ved at de fordeles mellom mor og dattercelle. I tillegg varierer produksjonen av gassvesikler, og ved cellevekst kan det skje en uttynning av mengde gassvesikler, hvis ikke syntesehastigheten av nye gassvesikler kompenseres for celleveksten. Gassvesikkelkollaps kan også skje, men for de fleste cyanobakterier er gassvesiklene så sterke at hverken turgortrykket eller det hydrostatiske trykket blir høyt nok for at dette skal skje (Walsby, 1994). Kolonidannelse er også en mekanisme som påvirker oppdriften og er en egenskap en ser hos enkelte cyanobakterier, som f.eks. *Microcystis*, *Anabaena* og *Aphanizomenon* (Walsby, 1994, Gjølme mfl., 2010). Disse slektene utsondrer store mengder med hygroskopisk slim som binder dem sammen til større kolonier. *Planktothrix* utsondrer også slimlag rundt filamentene, men i mindre mengder og de danner i hovedsak ikke kolonier, så fremt ikke populasjonen blir så stor at det skjer en aggregering av filamenter som kan vokse til kuleformede kolonier. Slimet gjør at cellene får et større volum, og større volum gir større oppdrift. Slimet har omtrent samme tetthet som vann, som ligger på $998,2 \text{ kg m}^{-3}$ ved 20°C , og i beregninger brukes gjerne likningen: $\rho_{\text{slim}} = \rho_{\text{vann}} + 0.7$ (Howard mfl., 1996). Selv om selve slimet ikke gir positiv oppdrift, bidrar det til å redusere cellenes tetthet totalt sett siden cellene i seg selv har høyere tetthet enn vann (Whitton og Carr, 1982, Reynolds, 2007).

Det er foretatt mange studier, både feltstudier og laboratoriestudier, som involverer oppdriftsmekanismene til cyanobakterier. Disse studiene har vært viktige med tanke på å lage modeller som kan simulere cyanobakteriers plassering i vannsøylen.

Når kulturer med cyanobakterier studeres i laboratorium, kan det brukes ulike reaktorer (Figur 19). Den enkleste reaktoren er en batch/sats-reaktor som er et lukket system hvor kulturen vokser i et valgt vekstmedium. Siden næringsstoffene kun tilføres ved start, og avfall ikke blir fjernet under inkubasjon, kan batch kulturer bare fullføre et begrenset antall livssykluser før næringsstoffer er fortært og veksten stopper. Kulturen vil gå igjennom ulike vekstfaser (Figur 18) og vil først gå igjennom en lagfase, der cellene tilpasser seg sine omgivelser. De trenger tid til å tilpasse seg til næringsstoffene, slik at veksten i denne fasen er langsom og det forekommer ikke celledeling. Selv om det ikke er noen celledeling, kan cellene vokse i volum eller masse og de kan produsere enzymer, proteiner, RNA, o.l. og øke den metabolske aktiviteten. Etter lagfasen går de over i loggfase der cellene har rik tilgang på næringsstoffer slik at de vokser og i tillegg deler. I denne fasen er veksten eksponentiell og fasen kalles også eksponentiell fase. Etter hvert vil tilgangen på næringsstoffer avta og stasjonær fase inntreffer og veksten vil være lik stor som celledøden. I siste fase, død fase, vil celledøden være større enn veksten. Dette kan skyldes at næringsstoffene er brukt opp, eller at det er dannet avfallsstoffer, eller at oksygenivået er blitt for lavt (Kenneth Todar, 2015). Batchkulturer som får tilført ytterligere næringsstoffer kalles fed-batchkulturer. I de kontinuerlige kulturene blir det kontinuerlig tilført nødvendige næringsstoffer i en kontinuerlig strøm, i tillegg til at celler, produkter, rester og avfallsstoffer fjernes i en kontinuerlig avløpsstrøm. For kontinuerlige reaktorer er veksten styrt av begrenset tilførsel av næringsstoffer og fortynningshastighet som er det samme som veksthastighet. Ved likevekt er vekstraten lik gjennomstrømmingen av næringsmedium.



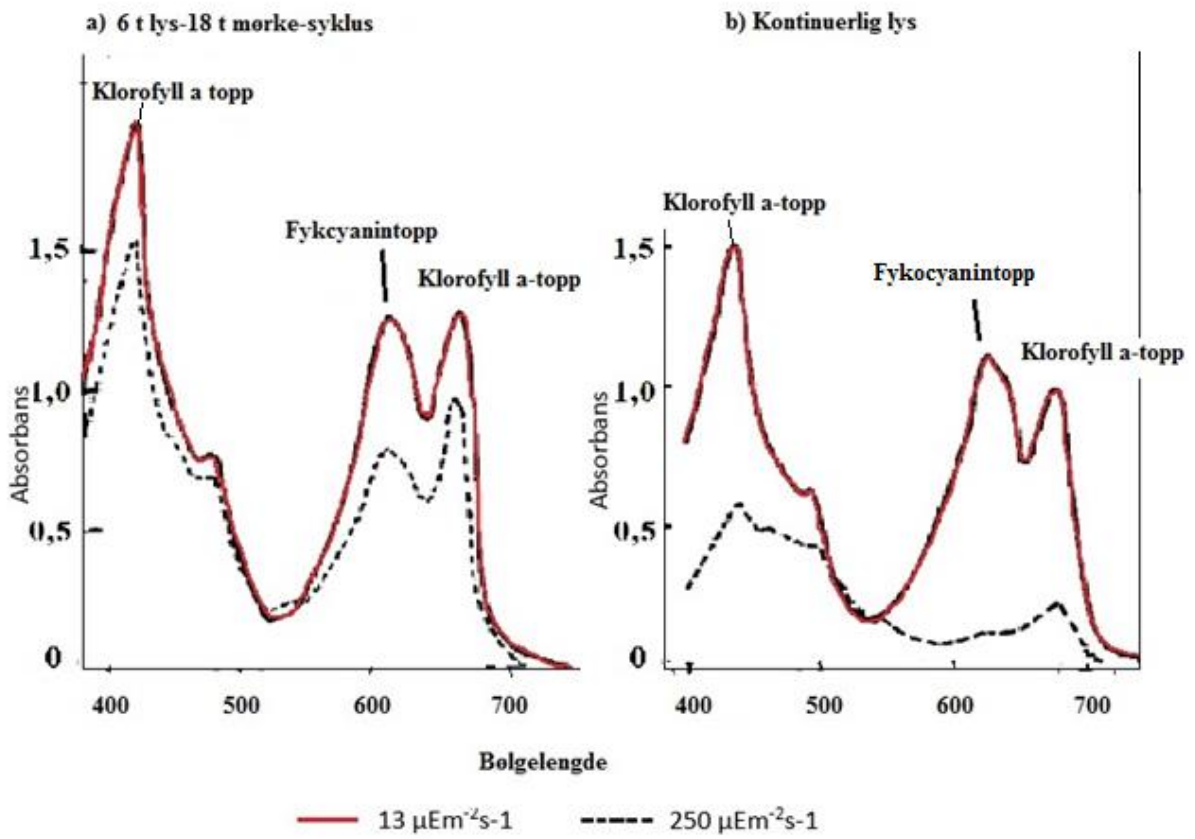
Figur 18 Bakterievekst-kurve i batchkulturer. A: Bakteriene tilpasser seg omgivelsene og næringsstoffene i lagperioden. B: I loggfase skjer det eksponentiell vekst. C: I den stasjonære fasen er antall nye celler lik antallet celler som dør. D: I død fase stopper celledelingen og veksten og bakteriene dør.



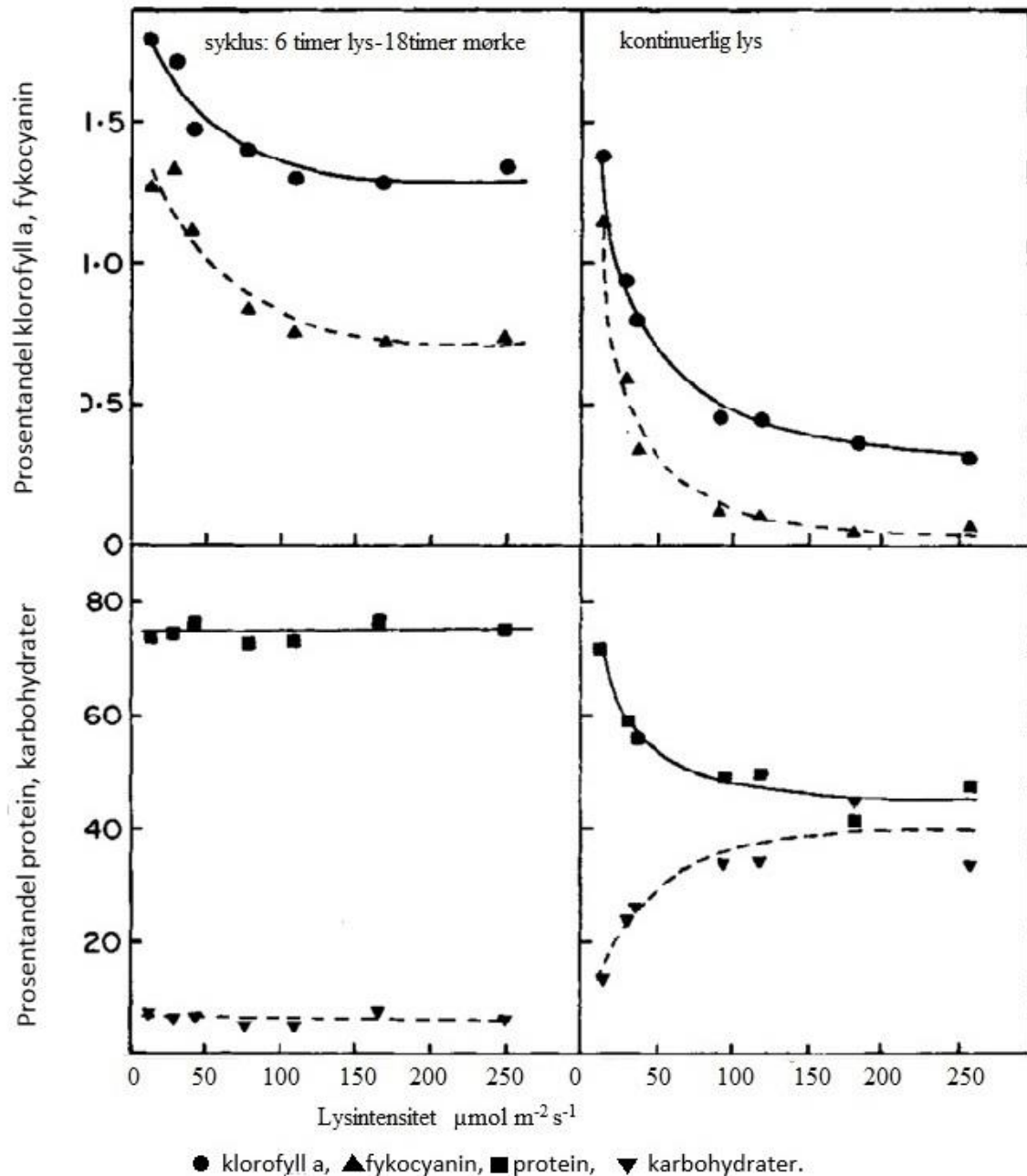
Figur 19 a: Batchkultur, b: Fed-batchkultur, c: Kontinuerlig kultur/chemostat. En chemostat som har variasjon i lyseksponeringen kalles en cyclostat.

4.1.1 Lys og næringsstoffers betydning for oppdrift hos cyanobakterier.

Cyanobakterier responderer på lys og næringsstoffer ved at oppdriften endres. Lys påvirker fotosyntese-effektiviteten, og både lysintensitet og eksponeringstid har betydning. Studier har vist at cyanobakterier kan tilpasse seg lysforholdene ved å endre pigmentinnholdet slik at fotosyntesekapasiteten bedres (Foy og Gibson, 1982). Foy og Gibson (1982) målte fotosyntese og pigmentinnhold i *Oscillatoria redekei* van Goor under ulike lysregimer. De målte også karbohydratinnhold og proteininnhold. Kulturene vokste både i vekslende lys og mørke (syklus tilsvarende 6 timer lys og 18 timer mørke), og i kontinuerlig lys. Kulturene vokste under 7 ulike lysintensiteter som varierte fra 13-260 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mens temperaturen var 15°C. Mengde klorofyll a og fykocyanin var lavere for celler eksponert for kontinuerlig høyere lysintensitet enn for lavere lysintensitet, og signifikant lavere fykocyanin-innhold for celler eksponert for høy lysintensitet (Figur 20). Forskjellen mellom de ulike kulturene var at cellene fikk en økt evne til å utnytte lys som enten hadde lav lysintensitet eller som ble gitt i korte perioder. Årsaken til dette var en økning i mengde fykocyanin og klorofyll a i cellene, og økningen av fykocyanin var proporsjonalt større enn klorofyll a. For kulturer eksponert for kontinuerlig lav lysintensitet, og for kulturer hvor lysregimet vekslet mellom lav og høy lysintensitet var kulturenes pigmentering forholdsvis lik. For kulturene som vokste ved kontinuerlig høyere lysintensitet var pigmentinnholdet derimot lavere sammenliknet med pigmentinnholdet i kulturene med vekslende høy lysintensitet (Figur 21). I tillegg var lyskompensasjonspunktet noe lavere for kulturene med vekslende lysregime, enn for de kulturene som vokste med kontinuerlig lysintensitet. For cellene som vokste i kontinuerlig lysintensitet, økte karbohydratinnholdet, mens proteininnholdet ble redusert når lysintensiteten økte. For kulturene som vokste under vekslende lys-mørke, var karbohydratinnhold og proteininnhold stabile ved økende lysintensitet (Figur 21), (Foy og Gibson, 1982). Reynolds (1990) gjorde liknende observasjoner på *Planktothrix agardhii*, der kulturer som vokste ved lav lysintensitet, viste en økning i fotosyntese-effektiviteten. Foy og Smith (1980) har i tidligere studier vist at vekst er mer effektiv under korte sykluser med lys-mørke, enn det er ved kontinuerlig lys. En mulig årsak til dette mente de var fordi det i mørkeperioden ble dannet proteiner, nukleinsyrer og pigmenter av overskuddet av karbohydrater som hadde blitt akkumulert i lysperioden (Foy og Smith, 1980).



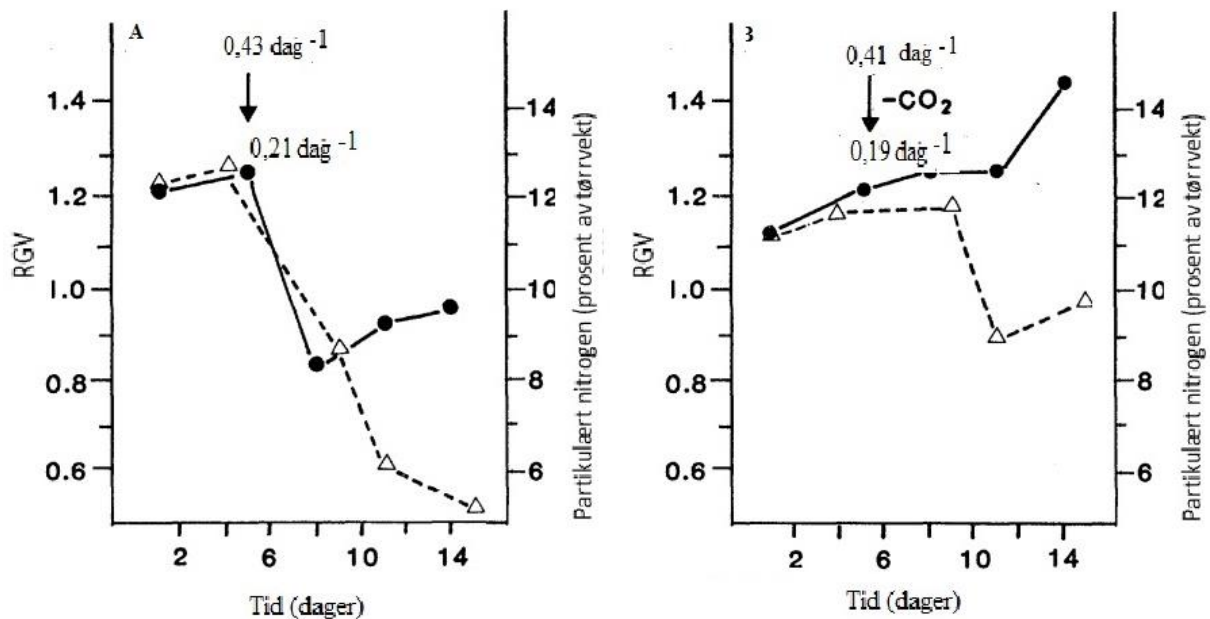
Figur 20 Absorbansmåling av 100 mg løst tørrvekt *Oscillatoria reddekei* eksponert for ulike lysregimer. Bearbeidet fra Foy og Smith (1982).



Figur 21 Prosentandel av karbohydrater, klorofyll a og fykocyanin i kulturer med *Oscillatoria redkei* som har vokst i en syklus tilsvarende 6 timer lys og 18 timer mørke og i kontinuerlig lys. Lysintensiteten var fra 13-260 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Bearbejdet fra Foy og Gibson (1982).

Det er ikke bare lysforholdene som påvirker graden av fotosyntese og cellenes metabolisme. Tilgangen på næringsstoffer er av stor betydning, og interaksjonen mellom lys og næringsstoffer, påvirker den relative fotosyntesehastigheten, i tillegg til veksten og produksjonen av gassvesikler.

Både laboratoriestudier og feltstudier har vist at relativ gassvakuoledannelse, RGV, og oppdrift hos cyanobakterier, avhenger av en interaksjon mellom lys og næringsstoffene, nitrogen, fosfor og karbon (Klemer mfl., 1982). Laboratorieforsøk med *Oscillatoria rubescens* utført av Klemer mfl. (1982) i kjemostatforsøk i vekslende lys og mørke, viste at når kulturen ble utsatt for karbonbegrensning, økte RGV. De så også en økning i RGV når kulturen ble gitt ammonium-nitrogentilgang, dvs. når det ikke var N-begrensning. Noe tilsvarende skjedde for en metalimnisk populasjon av *Oscillatoria agardhii* der økt tilgang på nitrogen medførte økt positiv oppdrift og overflateblomstring. Klemer mfl. (1982) henviste til forsøk med batchkulturer av *Anabaena flos-aquae* som viste at RGV økte i den senere vekstfasen, og at det samme var tilfelle for batchkulturer med *Anabaena* og *Microcystis* som viste økning i RGV når veksthastigheten avtok. Disse studiene viste at RGV økte under vekstbegrensende forhold. Lav lysintensitet virket også begrensende på vekst, og batchkulturer av *Anabaena flos-aquae* med tilstrekkelig næringstilgang, viste økning i RGV når lysintensitet ble redusert. I kulturer med *Oscillatoria rubescens* ble CO₂-tilgangen fjernet, og kulturen responderte ved å øke RGV slik at den fløt til overflaten (Klemer mfl., 1982). Studier har vist at når det er tilstrekkelig av næringsstoffene nitrogen og fosfor, vil cyanobakterier beholde sin oppdrift (Brookes og Ganf, 2001). For celler med nitrogenbegrensning kan turgortrykket reduseres ved tilførsel av nitrogen pga. assimilering av fotosynseprodukter. I tillegg har celler som har vokst med liten tilgang på nitrogen gjerne store karbohydrat-reserver som de kan nyttiggjøre seg til proteinsyntese. Når det ble mangel på disse næringsstoffene, viste forsøkene at kulturene mistet oppdrift pga. reduksjon i gassvesikkelvolumet (Klemer mfl., 1982). I samme studie av en nitrogenbegrenset kultur med *Oscillatoria rubescens*, reduserte de uttynningen (veksthastigheten) av kjemostatene på den femte dagen, og de fant at både RGV- og N-innholdet i cellene ble redusert. Mens RGV-innholdet etter hvert stabiliserte seg, fortsatte N-innholdet i cellene å synke. Den 5. dagen utførte de et annet forsøk der de reduserte uttynningen av tilsvarende, samtidig som de også begrenset karbontilgangen ved å fjerne tilførselen av CO₂. Etter en periode med stabilt RGV-innhold i cellene, økte innholdet. Nitrogeninnholdet i cellene gikk noe ned, og dette kan forklares med forbruk av nitrogenforbindelser som f.eks. RNA (Figur 22).

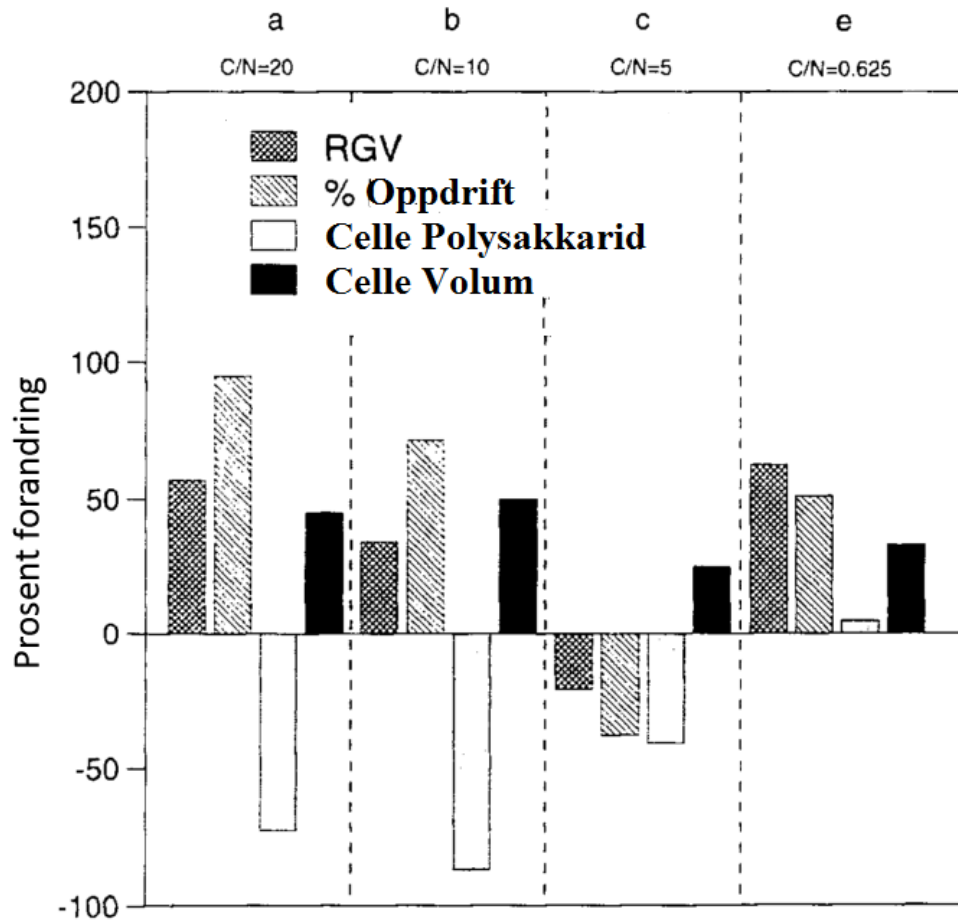


Figur 22 RGV (●) og partikulært nitrogen i prosent av tørrvekt (Δ). Nitrogenbegrenset *Oscillatoria rubescens* kultur som i A får redusert veksthastigheten på dag 5 fra 0,41 til 0,21 per dag. I B er reduksjonen i veksthastighet 0,41 til 0,19 per dag og i tillegg stans i CO₂-tilførselen på dag 5. Bearbeidet fra Klemer mfl. (1982).

I tillegg førte nitrogenbegrensning til lavere metabolisme av karbohydrater og det resulterte i at lageret av karbohydrater som ballast varte lengre.

Klemer mfl. (1996) utførte en ny studie der de så nærmere på hvordan tilgangen på karbon i interaksjon med nitrogen og lysforhold, regulerte oppdriften i *Microcystis*. De utførte forsøk med cyclostater med *Microcystis*. Disse cyclostatene var nitrogen- og karbonbegrensede og ble kjørt med en uttynningshastighet lik 0,16-0,18 dag⁻¹. Lysintensitet var 110 μmol m⁻²s⁻¹, i et lysregime lik 12 timer lys og 12 timer mørke ved 20 °C. Cyclostatene fikk ulike C:N forhold (atom-forhold), fra C:N=20:1 til C:N= 0,625:1. Cyclostatene fikk «pulser» med ammonium og resultatet viste at oppdriften økte, og at oppdriften holdt seg gjennom tre fotoperioder med 12 timer lys og 12 timer mørke for kulturen med høyt C:N forhold (C:N=20). Når den samme ammoniummengden ble tilsatt en kultur inkubert med redusert mengde karbon i forhold til nitrogen, (C:N = 5) økte også oppdriften, men ikke like mye og den varte kortere, bare i én fotoperiode. Cyclostatene fikk også pulser med karbontilførsel, og én kultur fikk også økt veksthastigheten fra 0,16 til 0,32 dag⁻¹. Klemer mfl. (1996) observerte at vedvarende karbonbegrensning forhindret syntese av gassvesikler slik at cellene mistet

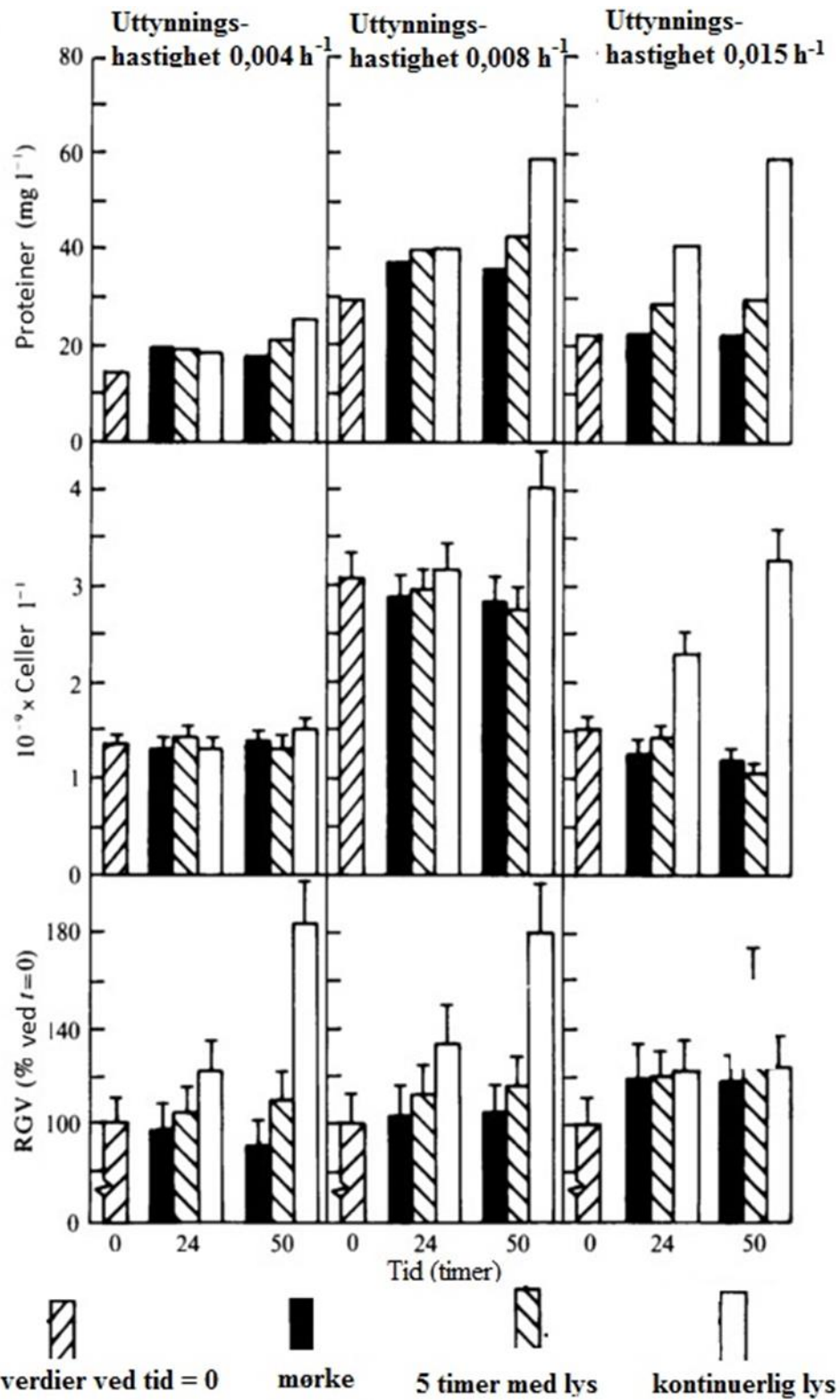
oppdrift. Klemer mfl. (1982) sitt studie av *Microcystis* var mer omfattende enn beskrevet, men de viktigste resultatene er gjengitt og illustrert i Figur 23.



Figur 23 Prosent forandring i RGV, oppdrift, mengde polysakkarider og cellevolum hos *Microcystis*. Kulturene **a-c** fikk nitrogen pulser og kultur **e** fikk økt uttynningshastigheten. Før denne behandlingen var **a-** og **b-** kulturene nitrogenbegrenset mens kultur **e** var karbonbegrenset. Kultur **c** vekslet mellom å være utarmet for nitrogen på morgenen og utarmet for karbon på kvelden. Bearbeidet fra Klemer mfl., 1982.

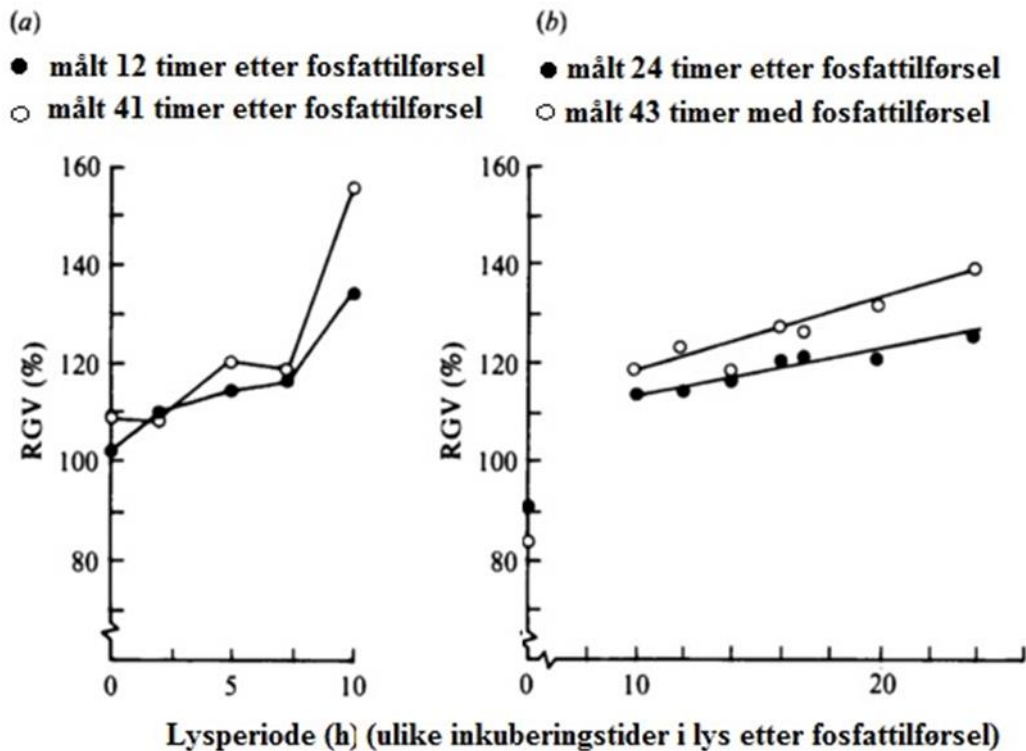
Kromkamp mfl. (1989) studerte hvordan *Microcystis* med fosfatbegrensning responderte når de fikk fosfattilskudd. De brukte fosforbegrensede stabile kjemostater med 3 ulike uttynningshastigheter: $0,004 \text{ h}^{-1}$, $0,008 \text{ h}^{-1}$ og $0,015 \text{ h}^{-1}$ (uttynningshastighet = veksthastigheter). Kulturene med ulike uttynningshastigheter ble brukt til å lage batch-kulturer som ble tilført fosfatmengde slik at konsentrasjonen ble $20 \mu\text{M}$. Deretter lot de kulturene vokse i mørke, eller i lys i 5 timer, eller i konstant vedvarende lys. Lysintensiteten var mellom $100\text{-}150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Resultatene viste at det ble produsert lite eller ingen proteiner i kulturene som vokste i mørke uavhengig av uttynningshastigheten. Det ble ikke produsert gassvesikler og antall celler økte heller ikke. Forholdet mellom karbohydrater og

proteiner gikk ned i disse kulturene, noe som også ble observert for kulturene som ble eksponert for lys i 5 timer etter tilførsel av fosfat. Kulturene eksponert for lys i 5 timer viste heller ikke økning i antall celler og den målte proteinproduksjonen var lav i forhold til produksjonen i kulturene med vedvarende kontinuerlig lyseksponering. Kulturene som vokste i kontinuerlig lys viste ulik respons på fosfattilskuddet avhengig av veksthastigheten. De med lavest veksthastighet $0,004 \text{ h}^{-1}$ viste ingen celledeling, mens den med høyest veksthastighet $0,015 \text{ h}^{-1}$ viste signifikant celledeling etter 24 timer. Kulturen med middels veksthastighet, $0,008 \text{ h}^{-1}$ viste celledeling etter 50 timer. Når det gjaldt produksjonen av gassvesikler, så ble ingen gassvesikler produsert i mørket, og for kulturene som vokste i 5 timer med lys, var det bare kulturen med høyest veksthastighet som økte gassvesikkelinnholdet etter 50 timer. For kulturene i vedvarende og kontinuerlig lys, ble det observert dannelse av gassvesikler 50 timer etter fosfattilførsel for kulturen med $0,004 \text{ h}^{-1}$ og en liten, men signifikant økning etter 24 timer for kulturen med $0,008 \text{ h}^{-1}$. Begge disse kulturene viste 80% økning i gassvesikkeldannelse 50 timer etter fosfattilførsel. Kulturen med høyest uttynningshastighet responderte relativt raskt på fosfattilførselen ved å akselerere veksten, mens kulturen med lavest veksthastighet ikke økte veksten (Figur 24).



Figur 24 Prosent RGV, Microcystis-celler og proteiner etter tilskudd av fosfat og varierende lys. Bearbeidet fra Kromkamp mfl, 1989.

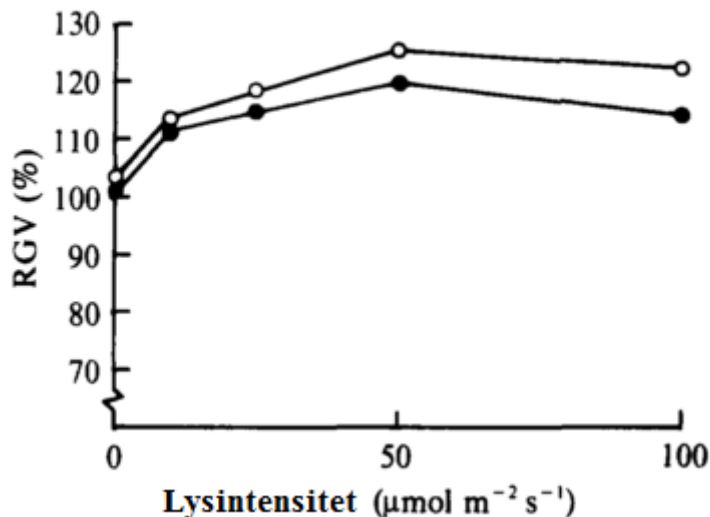
I de videre forsøkene der effekten av lengden på lysperiodene og lysintensiteten ble undersøkt, ble kulturer med lavest uttynningshastighet ($0,004 \text{ h}^{-1}$) brukt. De fikk tilført fosfat slik at konsentrasjonen ble lik $20 \mu\text{M}$ og sto deretter i ulike perioder i lys (0t, 2,5t, 5t, 7,5t og 10t) og RGV ble målt 12 t, 41 t (Figur 25: a) og 24 t og 43 t (Figur 25: b) etter fosfattilførselen. Resultatene viste at økningen i RGV skjedde for kulturene som hadde en lysperiode tilsvarende 10 timer (Figur 25).



Figur 25: Kulturer av *Microcystis aeruginosa* med fosfatbegrensning og uttynningshastighet lik $0,004 \text{ h}^{-1}$ fikk tilført fosfat slik at konsentrasjonen ble lik $20 \mu\text{M}$. Kulturene sto deretter i ulike perioder i lys (0t, 2,5t, 5t, 7,5t og 10t) og RGV ble målt 12 t, 41 t, 24 t og 43 t etter fosfattilførselen. Bearbeidet fra Kromkamp mfl., 1989.

Det ble gjort ytterligere forsøk for å se om tidspunktet for lyseksposering etter fosfattilførselen hadde betydning for gassvesikkelproduksjonene. Kulturene ble utsatt for 5 timer med lys, men på ulike tidspunkt etter fosfattilførselen. Resultatene viste at RGV ikke økte for kulturene som ble lyseksponert umiddelbart etter fosfattilførselen. Derimot økte RGV når lyseksposeringen skjedde mer enn 5 timer etter fosfattilførselen, og økningen var enda større når lyseksposeringen skjedde mer enn 10 timer etter fosfattilførsel. Kromkamp mfl. (1989) undersøkte også lysintensitetens betydning for gassvesikkelproduksjonen. Kulturer

med uttynningshastighet lik $0,004 \text{ h}^{-1}$ fikk tilført fosfat slik at konsentrasjonen ble lik $20 \mu\text{M}$ og ble eksponert for ulike lysintensiteter. Resultatene viste at produksjonen økte ved økt lysintensitet opp til $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, men gikk noe ned ved lysintensitet høyere enn $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figur 26).



Figur 26: ● viser RGV i prosent 14 timer etter fosfertilførsel. ○ viser RGV 40 timer etter fosfertilførsel. Bearbeidet fra Kromkamp mfl., 1989.

Deacon og Walsby (1990) utførte et studie der de undersøkte gassvesikkelproduksjon i cyanobakterier. De studerte kulturer av *Microcystis* og produksjonen av gassvesikler i mørket, og de fant at den var avhengig av lyshistorikken før de ble eksponert for mørke. Kromkamp mfl. (1989) hadde observert at det ikke ble produsert gassvesikler i mørket, men dette stemte ikke med Deacon og Walsbys resultater. Produksjonen var tilnærmet null for kulturer som hadde en lyshistorikk med lav lysintensitet tilsvarende mindre enn $15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dette resultatet samsvarte med Kromkamp et al. (1989) sine observasjoner, som viste at kulturen ikke produserte gassvesikler i mørket. Deacon og Walsby (1990) viste at for kulturer som var inkubert i høy lysintensitet, var gassvesikkelproduksjonen høy, og høyest når lysintensiteten var mellom 60 og $105 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Produksjonen av gassvesikler var avhengig av energireservene akkumulert i den foregående lysperioden, slik at produksjonen i mørket var størst i celler som var forbehandlet med høy lysintensitet. Produksjonen gikk derimot ned ved høy kontinuerlig lysintensitet, og det indikerte at produksjonen av gassvesikler ble inhibert når lysintensiteten ble høy (Deacon og Walsby, 1990).

I 2001 utførte Brooks og Ganf en studie på hvordan *Microcystis aeruginosa* reagerte ulikt på mettet lyseksponering, avhengig av lys- og næringshistorikken til populasjonen. De studerte både den kortsiktige og langsiktige responsen ved å undersøke cellenes fotosyntese, metabolismen av karbohydrater og det relative gassvesikkelvolumet i cellene. De brukte en cellekultur av *Microcystis aeruginosa* som hadde vokst i ASM-1 medium (Whitton og Carr, 1982) ved 25°C. De forbeholdt disse cellene ved å justere lysforholdene og tilgangen på nitrogen og fosfor slik at de fikk en ønsket nærings- og lyshistorikk. Deretter eksponerte de cellene for lys tilsvarende lysmetning ($150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Før næringstilgangen ble justert, fjernet de all tilgang på nitrogen for cellene der nitrogenhistorikken skulle varieres, og tilsvarende ble lagrene av fosfor tømt hos de cellene der fosforhistorikken skulle varieres. Etter denne forbehandlingen ble celler med nitrogenutarming og fosforutarming inokulert i ASM-1 medium med ulike nitrat- og fosfatkonsentrasjoner. De lagde triplikater med celler som vokste i nitrogen konsentrasjon tilsvarende: $0 \mu\text{M NO}_3^-$, $10 \mu\text{M NO}_3^-$ og $100 \mu\text{M NO}_3^-$, og triplikater med fosforkonsentrasjoner lik $0 \mu\text{M fosfat (PO}_4^{3-})$, $0,5 \mu\text{M fosfat}$ og $10 \mu\text{M fosfat}$. Triplikatene ble deretter inkubert i en syklus med 12 timers $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ lys og 12 timers mørke over 6-8 dager. I tillegg til å dyrke kulturer med variert nitrogentilgang og fosfortilgang, ble det også inokulert celler fra kulturen i ordinært ASM-1 media. Disse cellene ble eksponert for en 12:12 timers lys-mørke syklus over flere dager, der triplikater av celler ble inkubert med lysintensiteter lik 10 , 50 og $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, slik at de fikk ulik lyshistorikk. Etter forbehandlingen av kulturene, sto alle kulturene mørkt i 12 timer. Deretter ble de eksponert for lys i 24 timer som tilsvarte en lysintensitet lik $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, dvs. lysmetning. Både før og etter denne lyseksponeringen, målte Brooks og Ganf (2001) cellenes relative gassvesikkelvolum (RGV) og konsentrasjonen av karbohydrater. Gjennomsnittlig relativ gassvesikkelvolum ble beregnet ved å måle lysspredningen for celler med intakte gassvesikler og trekke fra lysspredningen for celler der alle gassvesiklene hadde kollapset pga. høyt trykk. Veksthastigheten ble målt ved celledelling i cellekammer ved hjelp av mikroskop.

Resultatene for de ulike kulturene etter 24 timer med lysmetning, viste en variasjon i oppdriftsresponsen (Tabell 4). Variasjonene i responsen knyttet seg til variasjon i fotosyntesehastigheten og hastigheten på metabolismen av karbohydrater, samt volumet til gassvesiklene i cellene:

For alle cellene med ulik nitrogenhistorikk økte lysspredningen, og det vil si at alle cellene hadde vokst pga. akkumulering av karbohydrater. Kulturene som vokste i $0 \mu\text{M N}$ fikk negativ oppdrift, og de mistet oppdriften pga. fortykning av gassvesikkelvolumet, og ved at

cellenes innhold av karbohydrater økte. Kulturene som vokste i 10 μM N fikk en økning av gassvesikkelvolum, men siden også innholdet av karbohydrater økte, fikk de fleste cellene negativ oppdrift. Cellene i 100 μM N beholdt oppdriften fordi metabolismen av karbohydratene var høyere og mer effektiv enn det den var for kulturene med nitrogenbegrensning.

Resultatene for cellene i konsentrasjoner lik 0 μM P viste et lite tap av oppdrift der 4% sank. Cellenes gassvesikkelvolum ble uttynnet og de fikk en økning i karbohydratinnhold. Cellene i 0,5 μM P hadde økning i både karbohydratinnhold og gassvesikkelvolum og beholdt andelen av flytende celler. Cellene som vokste i 10 μM P hadde en betydelig økning i gassvesikkelvolumet, men allikevel noe tap av oppdrift pga. økt karbohydratinnhold.

Alle kulturene med ulik lyshistorikk økte gassvesikkelvolumet og viste lik gassvesikkelproduksjon. Kulturene hadde derimot ulik veksthastigheter pga. ulik lyshistorikk der høyere lysintensitet ga større cellevekst. Variasjonen i cellevekst resulterte i ulike gassvolum per celle i de ulike kulturene. Økningen av karbohydrater var minimal for cellene i lysmetningsperioden, noe som kan tyde på at disse ble brukt under celleveksten. En mulig forklaring på at cellene mistet oppdriften til tross for økning i gassvesikkelproduksjon og den minimale økning i karbohydrater, kan være en økning i tettheten som følge av større lagring av stivelse i cellene. For celler der lyshistorikken tilsvarte høy lysintensitet var veksthastigheten kraftigst og uttynningen av gassvesikler størst. Disse cellene krevde ikke så stor mengde gassvesikler for å holde 50% av cellene flytende, noe som kan forklares med et lavere innhold av stivelse pga. stort karbonbehov for å opprettholde vekst.(Brookes og Ganf, 2001).

Studien til Brookes og Ganf (2001) viste at responsen ved lik lyseksposering ikke er entydig, men varierer med hensyn på tidligere lys- og næringshistorikk (Tabell 4).

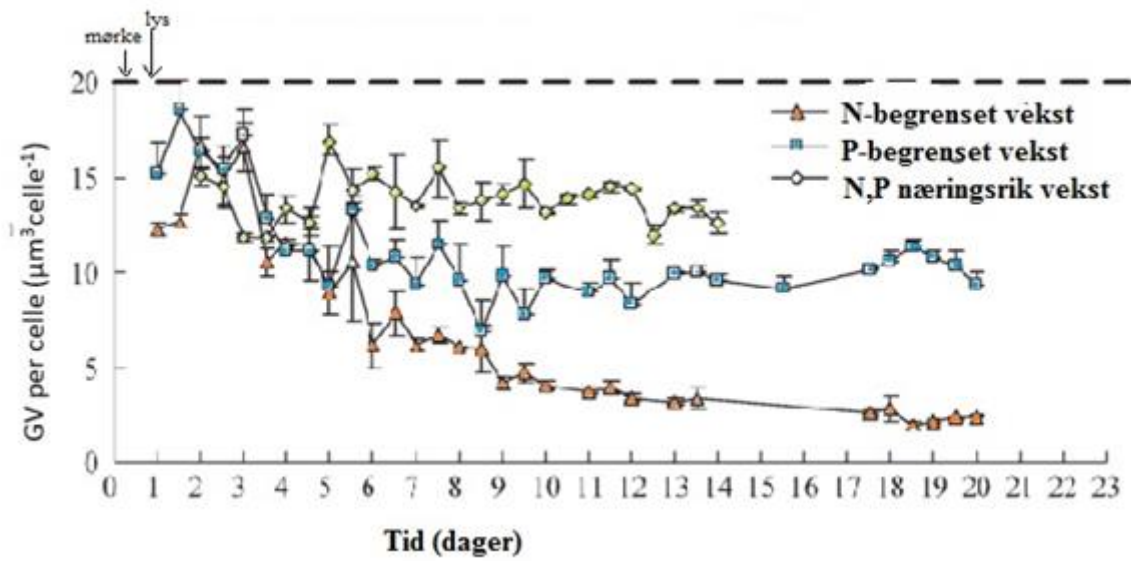
Tabell 4 Resultater etter 24 timer med lysintensitet lik $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$ for kulturer av *Microcystis aeruginosa* med ulik lyshistorikk og næringshistorikk. Bearbeidet fra Brookes og Ganf, 2001.

Næringshistorikk og lyshistorikk (I) for triplikater inokulert i ASM-1 media i 6-8 dager.	Respons etter inkubering i 12 timer i mørke og deretter 24 timer med lysintensitet $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$, tilsvarende lysmetning.			
	Vekst-hastighet (dag^{-1})	RGV endring (RGU)	CHO endring ($\mu\text{g celle}^{-1}$)	% Flytende celler og prosentvis endring
0 μM nitrat	0,06	-128	+15	63-29 (- 54)
10 μM nitrat	0,31	+66	+22,3	99-34,6 (-65)
100 μM nitrat	0,32	+105	+12,7	100-93 (-7)
0 μM fosfat	0,06	-50	+11,1	83-79 (-4,8)
0,5 μM fosfat	0,18	+21	+6,6	96- 95 (-1)
10 μM fosfat	0,47	+521	+15,4	100- 68 (-32)
I: $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$	0,21	+344	+0,7	99-23 (-77)
I: $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$	0,43	+285	-0,8	98-24 (-76)
I: $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$	0,75	+147	0,0	100-52 (-48)

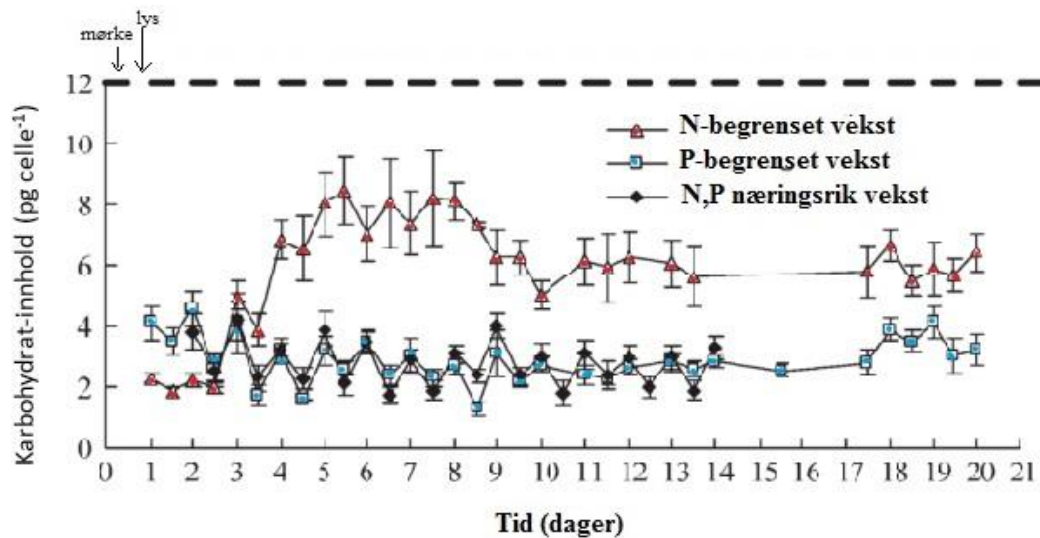
Brookes og Ganf (2001) målte det relative gassvesikkelvolumet i cellene (RGV) ved å måle lysspredning, og kunne derfor ikke si noe om det absolutte gassvesikkelvolumet og hvor mye gassvesiklene bidro til oppdrift. De kunne ikke sammenlikne den relative betydningen som gassvesikler og karbohydrater hadde på oppdriften. Dette gjorde Chu mfl. (2007) når de i stedet brukte kapillær-rør kompresjon for å bestemme gassvesikkelvolumet for kulturer av *Microcystis flos-aquae*. I deres studie målte de endringene i cellenes gassvesikkelvolum

(Figur 27) og innhold av karbohydrater (Figur 28) og proteiner (Figur 29). Dermed kunne de kvantitativt måle den relative betydningen til karbohydrater og gassvesikler i reguleringen av oppdriften under næringsbegrensende vekst.

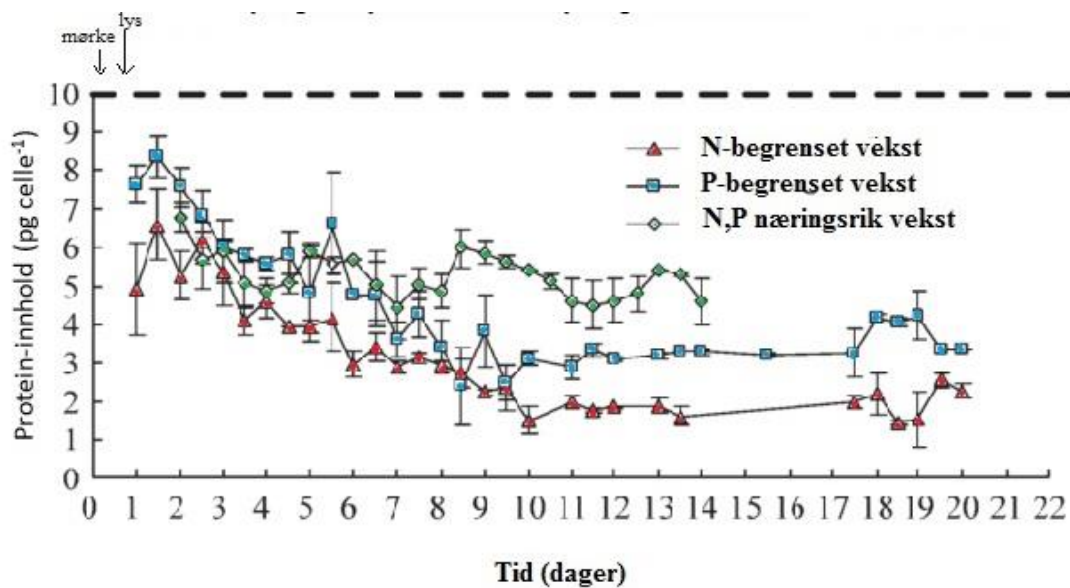
De lot kulturene vokse under nitrogen- og fosfor-begrensende forhold og i næringsrike forhold, med et lysregime lik 12 timer lys og 12 timer mørke. Kulturene som vokste i næringsrike forhold, hadde en eksponentiell vekstfase, mens kulturene som vokste under næringsbegrensende forhold hadde en eksponentiell vekstfase og en stasjonær fase. De fant at kulturene som vokste i næringsrike forhold hadde godt overskudd av gassvesikler og positiv oppdrift. Under nitrogenbegrensende vekst viste resultatene at kulturene reduserte gassvesikkelvolumet mest mot slutten av den eksponentielle fasen, mens reduksjonen var liten i den stasjonære fasen. Disse kulturene hadde opptil 84%-88% reduksjon av gassvesikkelvolumet per celle, samtidig som trenden viste at karbohydrater akkumulerte i cellene og forsterket den negative oppdriften. Ved lavest nitrogentilgang mistet 90% av cellene oppdriften og fikk en oppdrift som var bare 12 % av hva den var under næringsrike forhold. Gasvesikkelvolumet per celle ble også noe redusert under fosforbegrensende vekst, men i betydelig mindre grad enn ved nitrogenbegrensning. Det var bare mot slutten av den eksponentielle fasen at det ble en reduksjon i gassvesikkelvolumet per celle. Også med maksimal reduksjon av gassvesikkelvolumet på 22%-32% per celle, mistet ikke cellene med fosforbegrensning oppdriften, men holdt seg flytende. Hvor viktig endringene i karbohydratinnhold var for oppdriften, var avhengig av mengde gassvesikler i cellen, og mengden gassvesikler ble bestemt av cellenes næringstilgang. For celler med overskudd av næring var ikke økningen i mengden karbohydrater avgjørende for oppdriften, siden de hadde et overskudd av gassvesikler. I celler med begrenset næringstilgang ble veksten begrenset og resultatet ble uttynning av gassvesikler ved celledeling. Den daglige endringen i karbohydrater ble derfor mer avgjørende for disse cellene. Chu mfl. (2007) fant at den mer langsiktige oppdriftsreguleringen ble bestemt av mengde gassvesikler og uttynning av gassvesikler, mens den kortsiktige reguleringen av oppdriften ble bestemt av akkumulering av karbohydrater og forbruk av disse. Både de kortsiktige og langsiktige reguleringene av oppdrift ble påvirket av cellenes næringstilgang (Chu mfl., 2007).



Figur 27 Forandring i gassvesikkelvolumet per celle for *Microcystis flos-aquae* i kulturer med og uten næringsbegrensning i nitrogen og fosfor. (Strekene ut i fra punktene angir standardavvik i duplikatene). Bearbeidet fra Chu mfl., 2007.



Figur 28: Forandring i karbohydratinnhold per celle for *Microcystis flos-aquae* i kulturer med og uten næringsbegrensning i nitrogen og fosfor. (Strekene ut i fra punktene angir standardavvik i duplikatene). Bearbeidet fra Chu mfl., 2007.



Figur 29: Forandring i proteininnhold per celle for *Microcystis flos-aquae* i kulturer med og uten nitrogen- og fosforbegrensning. (Strekene ut i fra punktene angir standardavvik i duplikatene). Bearbeidet fra Chu mfl., 2007.

4.1.2 Modellering og simulering av cyanobakteriers bevegelse i vannsøylen.

Kromkamp og Walsby utførte en studie i 1990 som resulterte i en datamodell som simulerte de daglige endringer i oppdriften og den vertikale bevegelsen av kolonier og filamenter av cyanobakterier i vannsøylen (Kromkamp og Walsby, 1990). De hadde begge tidligere utført liknende datamodellering, og deres nye datamodell var en kombinasjon av tidligere arbeid, men med en bedre beskrivelse av fysiologiske forhold for cyanobakterier. Modellen bygde på eksperimentelle data av tetthetsforandringer i en kontinuerlig kultur av *Planktothrix* fra Gjersjøen i Norge. De fant at tetthetsforandring under lyseksponering var avhengig av lysintensiteten, mens tetthetsforandring i mørket var tidsavhengig og påvirket av lyshistorikken. Datamodellen beregnet hvordan tetthetsforandringer påvirket flyte eller synkehastigheten til kolonien, som følge av lyseksponering i en gitt dybde ved et gitt tidspunkt på dagen. Lysintensiteten for ulike dybder, I_z , ble beregnet ut i fra tid på dagen og maksimal lysintensitet på overflaten, I_{max} . Den kalkulerede tettheten ble anvendt i Stokes lov for å beregne flyte- og synkehastigheten til kolonien (Formel 2). Ut i fra den beregnede flyte- og synkehastigheten ble det deretter beregnet en ny dybde, z_2 (Formel 17):

Formel 17

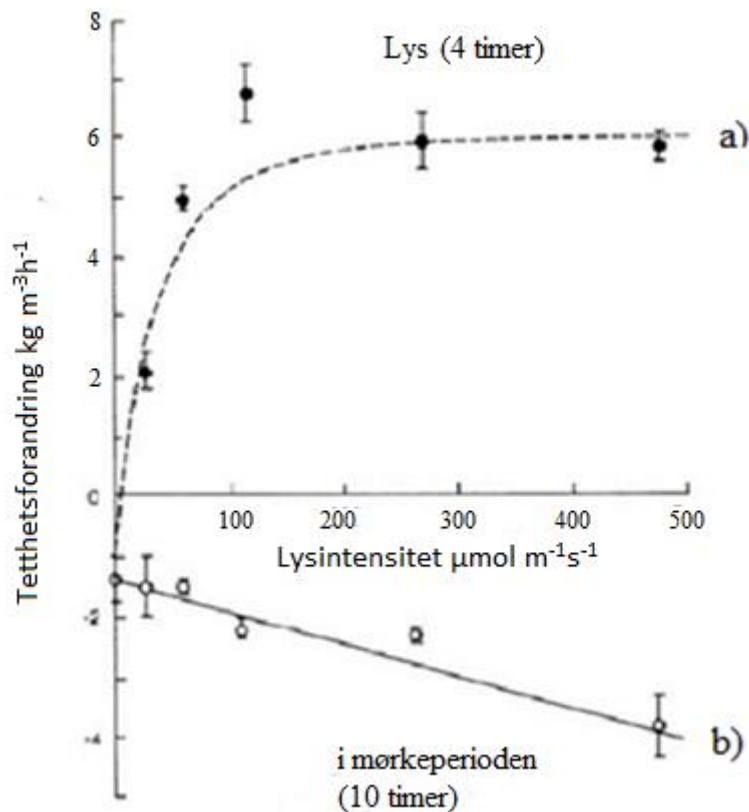
$$z_2 = vP + z_1$$

der v er synke og flytehastigheten beregnet ved Stokes lov, P er tidsintervallet mellom $t=1$ og $t=2$. Ved å gjenta prosedyren kunne nye beregninger av lysintensitet, tetthet og synkehastighet brukes til å angi ny dybde for kolonien. Datamodellen kunne dermed simulere koloniens bevegelse i vannsøylen.

For å beregne tetthetsforandringer med hensyn på lysintensitet, ble det først foretatt målinger av tettheten med hensyn på tid under konstante lysforhold. Percoll tetthetsgradient ble brukt til å beregne tettheten til en kultur som først hadde vokst i lysintensitet lik $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, og deretter en 7 timers eksponering med gjennomsnittlig lysintensitet lik $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Etter 5 timer ble maksimal tetthet målt til 1115 kg m^{-3} (med kollapsede gassvesikler) og laveste tetthet målt til 1080 kg m^{-3} etter 7 timer uten lystilgang (med kollapsede gassvesikler).

Kromkamp og Walsby (1990) konkluderte med at både økningen og reduksjonen under disse lysforholdene var lineær med hensyn på tid. Det at tettheten kunne måles som en funksjon av tiden ved gitt lysintensitet, betød at endringen i tetthet, tetthetsgradienten, kunne beregnes ved å foreta tetthetsmålinger i et større intervall med ulik lysintensitet. Målingene resulterte i en modell som ga en hyperbolsk graf når kulturen var eksponert for økende lysintensitet, mens

modellen ble en lineær funksjon avhengig tiden og lyshistorikken når kulturen ikke var lysekspontert (Figur 30).



Figur 30: Lysavhengig tetthetsforandring for en lysbegrenset kultur av *Planktothrix*. a) inkubering av de kontinuerlige kulturene i 4 timer med ulike lysintensiteter. b) responsen etter lys-eksponeringen der kulturene står mørkt i 10 timer (batch). Bearbeidet fra Kromkamp og Walsby, 1990.

Resultatene viste at de kunne bruke Michaelis-Menten likningen ved lysekspontering for å beskrive endringen av tetthet med hensyn på tid (Formel 18):

Formel 18

$$\frac{d\rho}{dt} = c_1 \left[\frac{I}{K_I + I} \right] - c_3$$

der $d\rho/dt$ er endringen i tettheten med hensyn på tid, med benevnningen $\text{kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$, c_1 ($0.132 \text{ kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$) er hastighetskoeffisienten ved reduksjonen av tetthet med hensyn på tid, K_I er lysintensiteten når tetthetsforandringen med hensyn på tid er halvparten av det den er når den er maksimal. I er den gjennomsnittlige lysintensiteten og c_3 ($2.3 \cdot 10^{-2} \text{ kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$) er den laveste hastighetskoeffisienten ved tetthetsreduksjon.

I mørket kunne de uttrykke reduksjonen av tetthet lineært med hensyn på tid (Formel 19):

Formel 19

$$\frac{d\rho}{dt} = c_2 \cdot I_a - c_3$$

der $d\rho/dt$ er endringen i tettheten med hensyn på tid, med benevnningen $\text{kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$. I_a er den foregående lysintensiteten, c_3 er den minimale hastighetskonstanten ved tetthetsreduksjon, og c_2 ($7,67 \cdot 10^{-5} \text{ kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$) er den lysavhengige hastighetskoeffisienten.

Ved å kombinere disse to likningene beregnet de den nye tettheten (Formel 20):

Formel 20

$$\rho_2 = \rho_1 + P \left(c_1 \left[\frac{\bar{I}_z}{K_I + \bar{I}_z} \right] - c_2 I_a - c_3 \right)$$

der P er tidsintervallet målt i minutter ρ_2 er den nye tettheten som brukes i Stokes lov for å beregne synke- og flytehastigheten.

Kromkamp og Walsby (1990) antok at når størrelsen på kolonien økte ville kolonien synke dypere pga. økt hastighet, men det stemte ikke med observasjonene. Det viste seg at det ikke bare er økt størrelse på kolonien som medfører økt hastighet, men også økt andel cellevolum i forhold til kolonivolum (A) gir økt synkehastighet. Modellen viste også andre interessante forhold, som at når kolonier sank fra overflaten, så fløt andre kolonier opp og erstattet den synkende kolonien. De målte også innhold av karbohydrater og fant at under samme lysforhold fulgte mengden av karbohydrater samme mønster som for tetthet.

Eksperimenter viser at cyanobakterier som har vokst i sterk lys eller over lengre tid i lys, har en lavere fotosynteseaktivitet enn cyanobakterier som har vokst i svakere lys eller i korte perioder med lyseksposering. De sistnevnte klarte å utnytte lavere lysintensitet bedre ved at andelen av antennepigmentet fykocyanin økte (Foy og Gibson, 1982). I tillegg påvirker næringstilgangen metabolismen av karbohydrater. Fosforbegrensede celler av *Microcystis aeruginosa* som vokste ved lav lysintensitet, brukte polysakkaridene som var akkumulert under tidligere lysperiode mindre effektivt med tanke på proteinsyntese. Tetthetsforandringen skjer derfor ikke så raskt for celler med fosforbegrensning under lysbegrensning fordi andelen tyngre polysakkarider i forhold til lettere proteiner blir høyere. Hastighetskonstanten, c_1 , for økning av tetthetsforandring, har også sin karakteristiske verdi for fosforbegrensede kulturer. Ved å bruke disse tilpassede hastighetskonstanter for fosforbegrensede kulturer, kunne kulturens bevegelse i vannsøylen simuleres (Kromkamp og Walsby, 1990). Simuleringen

viste at kulturen sank dypere i vannsøylen, noe som stemte godt overens med observasjonsdata fra naturlige kulturer med fosforbegrensning. Datamodellens validitet ble testet ved å simulere en populasjon, der det ble brukt data fra en veldokumentert populasjon av *Planktothrix agardhii* fra Gjersjøen i Norge (Walsby i 1983 og 1987). Modellen ble brukt på både filamenter og større kolonier, og den stemte godt med datamaterialet de hadde for den naturlige populasjonen. Økning av den lysavhengige hastighetskonstanten ga tydelig utslag ved at kulturen mistet raskere oppdrift, sank dypere i vannsøylen og nådde maksimal dybde raskere. Kromkamp og Walsby (1990) påpekte at hastighetskonstantene hadde stor betydning i datasimuleringen. Det utgjorde et problem at disse hastighetskonstantene ikke bare var avhengig av type organisme, men også påvirket av organismens fysiologiske tilstand som f. eks. fosfortilstanden. Hvis derimot endringer i oppdriften kunne beregnes ut ifra forholdet mellom fotosyntese og lys, ville datamodellen blitt mer anvendelig for en rekke organismer som det er utarbeidet P/I kurver til. Den eneste parameteren som må beregnes i så måte, er maksimum og minimum tetthet for oppdrift, og det kan enkelt bestemmes ved bruk av Percolls tetthetsgradient.

Modellen tok ikke hensyn til at koloniene som sank fortere hadde et kortere opphold med høy lysintensitet og derfor ikke akkumulerte så mye karbohydrater som de mindre koloniene som hadde et lengre opphold. Med bakgrunn i deres eksperimentelle målinger, antok de at forandringer i tetthet var en lineær funksjon avhengig av tiden ved en gitt lysintensitet. Dette har vist seg å ikke stemme, siden cyanobakteriene trenger noe tid for å omstille seg de nye lysforholdene. I denne perioden (ca. 20 minutter), vil ikke tetthetsøkningen være lineær, og dette er et forhold som har betydning når de vertikale bevegelsene skal simuleres.

Kromkamp og Walsby (1990) viste i sitt studie at det å forutsi forandringer i oppdriften ved å bruke datasimulering er mulig men komplisert, siden kolonien eller filamentene stadig beveger seg opp og ned i vannsøylen der lystilgangen varier. Ved å utføre datasimulering på en veldokumentert populasjon i en godt studert innsjø, viste de at datamodellen stemte godt overens med populasjonens bevegelse. Modellen viste at maksimum dybde for kolonien var uavhengig av størrelse, men avhengig av størrelsen på hastighetskonstanten som angir graden av tetthetsforandring per tid avhengig av lysintensitet.

Fotoinhibering ble ikke observert og ikke tatt hensyn til i modellen, selv om *Planktothrix* er kjent for å være sensitiv for høy lysintensitet (Mur mfl., 1999). Det er dokumentert at mange cyanobakteriearter er sensitive for høy lysintensitet over lengre tid. For *Planktothrix agardhii* inhiberes veksten når lysintensiteten i lengre tid overskrider $180 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ og for mange

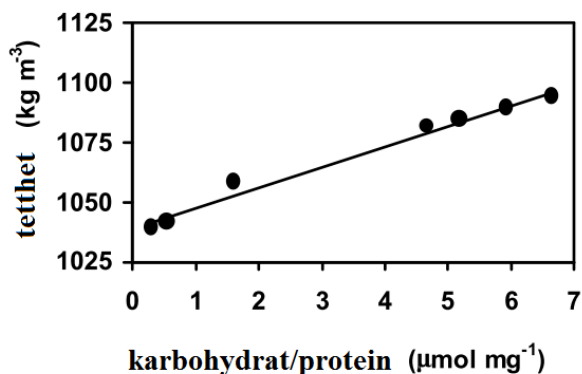
arter er en lysintensitet på $320 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ over lengre tid høy nok til å være dødelig. Hvis de eksponeres for tilsvarende lysintensitet i kortere periode, vil det derimot gi optimal veksthastighet. De artene som har en tendens til å danne overflateoppblomstringer, ser ut til å ha større toleranse for høye lysintensiteter (Mur mfl., 1999).

I 1997 tilpasset Visser mfl. modellen til Kromkamp og Walsby (1990) til å gjelde for kolonier av *Microcystis* sp, som de lot vokse i næringsrikt medium. Visser mfl. (1997) mente at cellenes endringer i karbohydratinhold kunne måles mer presist enn endringer i tettheten, og at dissen endringene kunne konverteres til tetthetsendringer. I stedet for å ta utgangspunkt i forholdet mellom tetthetsendringer og lysintensitet, utnyttet de en annen sammenheng mellom tettheten og cellenes mengde av karbohydrater i forhold til mengde proteiner (c). Ved å bruke lineær regresjon uttrykte de en likning for tettheten (ρ) og fikk stigningstall, a og konstantledd b (Formel 21):

Formel 21

$$\rho = a \cdot c + b$$

der ρ er tettheten, $a = 8.5587 \text{ g mmol}^{-1} \text{ kg m}^{-3}$, $b = 1039,1 \text{ kg m}^{-3}$ og enheten c er forholdstallet i mmol g^{-1} (karbohydrat/protein).



Figur 31 Cellenes tetthet plottet mot forholdet mellom karbohydrater og proteiner. Lineær regresjon gir formelen for tetthet, Formel 24. Bearbeidet fra Visser mfl.,1997.

Metoden som brukes for å bestemme likningen for tetthetsforandringer, bygger på målinger av karbohydratinholdet ved ulike lysintensiteter. De målte og de kalkulerede forholdstallene mellom mengde karbohydrater og mengde proteiner, stemte godt overens for to kontinuerlige kulturer med *Microcystis*. Videre brukte de lineær regresjon for å finne karbohydratforandringene med hensyn på tid ved ulike intensiteter av lys og i mørke i batchkulturene. Ved å bruke likningen over kunne de beregne endringene i tetthet. Videre ble

graden av tetthetsendringer plottet mot lysintensitet og regresjonsanalyse ble brukt for å beregne koeffisienten. Denne koeffisienten ble brukt videre i likningen for å beregne tetthetsforandringene når lysintensiteten var over kompensasjonspunktet I_c (Formel 22).

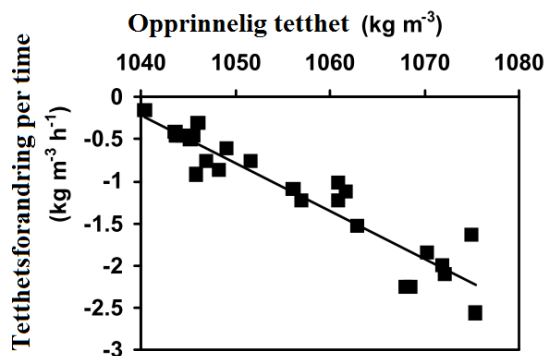
Formel 22

$$d_{(I)} = (N_0/60)Ie^{\left(\frac{-I}{I_0}\right)} + e$$

der $d_{(I)}$ er tetthetsforandringen med hensyn på lysintensitet I , I_0 er lik I når $\rho(I)$ er maksimal. Maksimalverdien ble målt til $277,5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. e er graden av tetthetsforandring når $I = 0$ og denne verdien ble målt til $-0,0165 \text{ kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$. N_0 er en normativ faktor lik $0,0945 \text{ kg m}^{-3}\mu\text{mol}^{-1}\text{fotoner m}^{-2}$

Metoden og likningene brukes videre i modellen for vertikal bevegelse for kolonier av *Microcystis* (Visser mfl., 1997).

For å beregne tetthetsforandringen i kolonien med lysintensitet lavere enn lysintensiteten ved kompensasjonspunktet (I_c), brukte de en annen framgangsmåte enn det Kromkamp og Walsby (1990) brukte. Dette skyldes at de ikke kunne dokumentere et lineært forhold mellom tetthetsforandringer og lyshistorikk slik Kromkamp og Walsby (1990) hadde gjort. De dokumenterte derimot en lineær korrelasjon mellom selve reduksjon i tetthet og tettheten i cellene .



Figur 32 Tetthetsforandring og opprinnelig tetthet korrelerer når lysintensiteten er $< I_c$ og lineær regresjon benyttes for å beregne tetthetsforandringen. Bearbeidet fra Visser mfl., 1997.

Beregningen av tetthetsforandringer i kolonien med lysintensitet $< I_c$ baserer seg på respirasjonen i mørket, metabolismen av karbohydrater, (Formel 23) og ikke på lyshistorikken slik tilfellet er når lysintensiteten er $> I_c$.

Formel 23

$$d_{(\rho)} = f_1 \cdot \rho_i + f_2$$

Der $d\rho$ er graden av tetthetsforandring i mørket ($\text{kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$) og ρ_i er den opprinnelige tettheten (kg m^{-3}), f_1 er stigningstallet lik $9,49 \cdot 10^{-4} \text{min}^{-1}$, mens f_2 er den teoretiske graden av tetthetsforandring når det ikke er noe lager av karbohydrater i cellen ($0,984 \text{kg m}^{-3}\text{min}^{-1}$)

For å beregne ny tetthetsverdi, ρ_2 (Formel 24, Formel 25) etter et tidsintervall målt i minutter (t_x), ble det tatt hensyn til om lysintensiteten ved dybden z (I_z), var større eller lavere enn lysintensiteten ved kompensasjonspunktet (I_c). I tillegg ble det tatt hensyn til at det i likningene for $d_{(\rho)}$ (Formel 23) og $d_{(I)}$ (Formel 22) ble brukt tetthetsverdier basert på celler uten oppdrift (uten gassvesikler), ved å legge til differansen mellom 1045kg m^{-2} (tettheten til cellene i de kontinuerlige kulturene uten gassvesikler på starten av lysperioden) og 980kg m^{-2} (tettheten for celler med oppdrift som er startverdien i beregningene).

Formel 24

$$\text{for } I_z \geq I_c : \rho_2 = \rho_1 + t_x + d_{(I)}$$

Formel 25

$$\text{for } I_z \leq I_c : \rho_2 = \rho_1 + t_x + d_{(\rho)}$$

Synke og flyte hastighet, u , kunne deretter beregnes ut ifra en noe tilpasset Stokes lov og denne hastigheten brukte Visser mfl. (1997) i følgende likning for å beregne ny dybde z_2 som også viser hvor mye kolonien flyter opp eller synker i tidsintervall t_x .

Formel 26

$$z_2 = z_1 + 60 \cdot u \cdot t_x$$

Daglige forandringer i forholdet mellom karbohydrater og proteiner ble målt og kalkulert. Disse ble brukt i simuleringer av to kontinuerlige kulturer av *Microcystis* med lysregimer lik $Z_m = 0$ og $Z_m/Z_{eu} = 3,6$ som innebærer henholdsvis ingen miksing og dyp miksing av vannsøylen. Selv om de to kontinuerlige kulturene ble utsatt for det samme lysregimet, er det ikke overraskende at kulturen med dyp miksing viste en mye lavere akkumulering av karbohydrater enn kulturene uten miksing av vannsøylen. Maksimumdybden økte med

størrelsen på koloniene for kolonier som var 200 μm eller mindre. I tillegg økte maksimumdybden når lysintensiteten på overflaten økte, mens den ble mindre når lysintensiteten ble så høy at den forårsaket inhibering. De mindre koloniene var mer utsatt for lysinhibering enn de større koloniene. Størrelsen på koloniene hadde også innvirkning på graden av tetthetsøkning, og den var større for de små koloniene enn for de store. Både lysinhiberingen og tetthetsøkningen, var større for de små koloniene. Ved lysinhibering vil tettheten påvirkes fordi akkumuleringen av karbohydrater avtar siden fotosyntesystemet hemmes. Netto tetthetsøkning hos en liten koloni på 10 μm var større, enn for en koloni på 100 μm ved høy lysintensitet som forårsaket inhibering. Det at de små koloniene økte tettheten mer enn de store koloniene, kunne nok forklares ut i fra den lengre tiden som de små koloniene oppholdt seg ved høyere lysintensitet enn det de større koloniene gjorde. De små koloniene migrerer grunnere i vannsøylen og oppholder seg dermed lengre i den delen av vannsøylen der lysintensiteten er høyere, enn det de større koloniene gjør. Visser mfl. (1997) sine studier viste at graden av tetthetsøkning i *Microcystis* ble påvirket av lysinhibering ved høy lysintensitet, noe som ikke var tilfelle i Kromkamp og Walsby's studier i 1990. Forklaringen på dette kan være at de studerte større kolonier av *Microcystis* enn det Visser et al. (1997) gjorde. Større kolonier ble ifølge Visser mfl. (1997) ikke like påvirket som mindre kolonier, fordi de større koloniene sank raskere og dypere enn de små, og ble dermed skjermet raskere for den høye lysintensiteten. Visser et al. (1997) tok hensyn til lysinhibering og brukte lys-responskurven, PI-kurven i datamodellen. Det er interessant at deres forskning viste en høyere tetthetsøkning hos de mindre koloniene ved lysinhibering, enn tetthetsøkning for de større koloniene, noe som kan tolkes som at det er mindre gunstig for kolonien å være stor. Det vil nok allikevel kunne være en fordel at kolonien er stor, ved at lysinhibering over lengre tid vil kunne skade fotosyntesystemet til de små koloniene. I tillegg vil de større koloniene ved miksing av vannmassene raskere flyte opp til gunstige lysforhold, og ved næringsbegrensning vil de kunne synke raskere til dyp med gunstige næringsforhold. Resultatene viste at migrasjonsdybde økte med størrelsen på kolonier mindre eller lik 200 μm . Denne tendensen var ikke like utpreget for kolonier større enn 200 μm , men det må bemerkes at når koloniene blir for store, over 108 μm , vil Reynolds tall være større enn 0,1 og da vil ikke bruk av Stokes lov være tilfredsstillende.

Sammenliknes modellen til Visser mfl. (1997) med Kromkamp og Walsbys modell (1990), er det god overensstemmelse for kolonier større enn 200 μm , bortsett fra at simuleringer for *Microcystis* har en høyere grad av tetthetsforandring i lys og en lavere grad av tetthetsforandring i mørket enn simuleringer av *Planktothrix*. For de mindre koloniene har

Visser mfl. (1997) vist at det er viktig å ta hensyn til lysinhiberingen som inntreffer ved høy lysintensitet, når den vertikale endringen skal modelleres. Lysinhiberingen gjorde at de små koloniene ikke sank så dypt siden de hadde en mindre økning i tetthet enn tilsvarende kolonier uten lysinhibering. Visser mfl. (1997) utførte en grov sammenlikning med modellen og feltdata for en *Microcystis* populasjon. Modellen kalkulerte en noe for lav maksimumdybde for de små koloniene, og en litt for dyp maksimumdybde for de større koloniene. Visser et al. (1997) påpeker at modellen er forenklet, og at det også bør tas hensyn til både temperatur og næringstilgang siden disse faktorene også påvirker graden av tetthetsendringer. I tillegg påpekes det at miksing av vannsøylen er av stor betydning for cyanobakterienes posisjon i vannsøylen.

Howard mfl. (1996) lagde en avansert datamodell for vertikal bevegelse av en *Microcystis* koloni på 200 μm i diameter som de kalte for SCUM'96. På samme måte som Walsby og Kromkamp (1990), fokuserte også Howard mfl. (1996) på cyanobakterienes endring i ballast for å modellere koloniens vertikale bevegelse i vannsøylen. De knyttet tetthetsendringene til fotosyntesen i stedet for lysintensiteten. De beregnet cellenes fotosyntese ved å måle glykogeninnholdet i intervaller på 600 sekunder. Glykogenet som ble produsert fordelte de mellom vekst (K), ballast (B) og vedlikehold i cellene (R). De forutsatte at når netto fotosynteseprodukter var større enn det cellene brukte til vekst og vedlikehold, ville disse fotosynteseproduktene bli lagret som karbohydrater og fungere som ballast. I Howard mfl. (1996) ble overflateinnstrålingen (I_{surf}) (Formel 5) og lysintensiteten som penetrerte overflaten (I_0) (Formel 10) beregnet først. Lysintensiteten avtar nedover i vannsøylen og ved dybden z ble I_z beregnet (Formel 12). I modelleringen ble tettheten til koloniene brukt, og disse ble beregnet ved å ta hensyn til tettheten til slimlaget rundt cellene, cellenes tetthet og antall celler i kolonien. De beregnet fotosyntesen for å kunne beregne tettheten og den faktiske fotosyntesen ved 20°C, (P_{qi}) (Formel 27, Formel 28):

Formel 27

$$P_{qi} = I_z \cdot \text{TAN}\alpha \quad \text{hvis } I_z < P_{\max} \cdot \text{TAN}\alpha$$

og

Formel 28

$$P_{qi} = P_{\max} \quad \text{hvis } I_z > P_{\max} \cdot \text{TAN}\alpha$$

der P_{\max} er maksimal fotosynte ved 20°C og lysintensitet lik $753 \cdot 10^{-6} \text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

$\text{TAN}\alpha=0,0391$ og er tangens til vinkelen α på P/I kurven (Figur 7).

Maksimum karbonbehov for vekst (C_{gmax}) og graden av respirasjon var kjent og ble brukt til å fordele fotosynteseproduktene (glykogenet) til K (vekst), R (vedlikehold) eller B (ballast) etter følgende prinsipp:

Hvis $P_{qi} - R \leq C_{gmax}$ da ville det ikke akkumuleres noen ballast fordi karbohydratene ble brukt til vekst, K.

Hvis $P_{qi} - R \geq C_{gmax}$ da ville det akkumuleres ballast fordi $C_{gmax} = K$ og overskuddet ble lagret som ballast, B. ($B = P_{qi} - R - K$)

Når $P_{qi} - R < 0$ da ville K være lik null og ballasten bli negativ og cellene ville få oppdrift.

$$(B = P_{qi} - R)$$

Hvert gram karbon som akkumuleres som ballast, B og vil produsere 2,38 g av karbohydratet glykogen, og denne ballasten med glykogen, B_g , ble brukt når endringene i cellenes tetthet, $\Delta\rho_{cell}$ ble beregnet (Formel 29):

Formel 29

$$\Delta\rho_{cell} = (B_g \cdot C_{cell})/67$$

I likningene ble det tatt hensyn til både et antatt cellevolum til en *Microcystis*-celle tilsvarende $67\mu m^3$, og mengde karbon i hver celle (C_{cell}). I kolonien som helhet, $\Delta\rho_{col}$, ble antall celler i en koloni (colcell) som er ca. 12032 celler i en koloni med en radius på 100 μm brukt i beregningene av tetthetsendringen (Formel 30, Formel 31):

Formel 30

$$\Delta\rho_{col} = colcell \cdot 67 \cdot \Delta\rho_{cell} \cdot \left(\frac{4}{3}\right) \cdot \pi \cdot (r)^3 \quad \text{eller}$$

Formel 31

$$\Delta\rho_{col} = 12032 \cdot 67 \cdot \Delta\rho_{cell} / \left(\frac{4}{3}\right) \cdot \pi \cdot (100\mu m)^3$$

Cellenes tetthet ρ_{cell} ble igjen beregnet og tetthetsendringene i kolonien $\Delta\rho_{col}$ ble brukt for å beregne koloniens tetthet, ρ_{col} (Formel 32):

Formel 32

$$\rho_{col} = (F \cdot \rho_{cell}) + [(1,0 - F) \cdot \rho_{muc}] \quad \text{der } \rho_{muc} = \rho_{wat} + 0,7$$

Der ρ_{col} er tettheten til kolonien, F er vektforholdet mellom slimet og biomassen cellene opptar (0,19), ρ_{cell} er cellenes tetthet og ρ_{wat} er vannets tetthet.

For å beregne synke- og flyte hastigheten til kolonien, brukte de Stokes lov (**Feil! Fant ikke referanse kilden.**).

De inkluderte koloniens bevegelse i det miksedde laget som ligger nært overflaten i simuleringen når de beregnet dybden (h) til dette miksedde laget (Formel 33):

Formel 33

$$h^2 = \frac{W \cdot \rho \cdot v_*^2 \cdot L}{g \cdot \Delta P}$$

der h er dybden til det miksedde laget, g er tyngdens akselerasjon, L er innsjøens bredde, v_* er gjennomsnittshastigheten til det turbulente vannet og ΔP er tetthetsforskjellen mellom det miksedde laget og vannet som ligger under det miksedde laget. Gjennomsnittshastigheten (Formel 34) til det turbulente vannet i det miksedde laget avhenger av flere parametere og kunne beregnes med likningen:

Formel 34

$$v_*^2 = \frac{\rho_{air} \cdot c \cdot U^2}{\rho_{wat}}$$

der v_* er gjennomsnittshastigheten til det turbulente vannet, ρ_{air} er luftens tetthet, c er $1,3 \cdot 10^{-3}$ som er drag-koeffisienten, og U er vindens hastighet.

Modellen til Howard mfl. (1996) anvendte en rekke parametere og i beregningene var det f.eks. viktig at det ble innhentet riktige kartdata for innsjøen som simuleringen skulle gjelde for. Datamodellen tok utgangspunkt i cellenes vekst for videre å beregne koloniens tetthetsendringer slik at koloniens vertikale bevegelse i vannsøylen kunne simuleres.

Datamodellen utførte simulering over 10 dager med kalkuleringer i 600 sekunders intervaller for en enkelt koloni av *Microcystis*. Simuleringen viste tetthetsendringer som var realistiske i forhold til feltobservasjoner og resultater basert på funn i laboratorium. Koloniens tetthet varierte fra $999,2 \text{ kg m}^{-1}$ til $996,8 \text{ kg m}^{-1}$ og vekslet med å ha høyere og lavere tetthet enn vannets tetthet ($998,2 \text{ kg m}^{-1}$). Selv under ekstreme forhold, som f.eks. når lysintensiteten var ekstremt høy, viste simuleringen overensstemmelse med sammenliknbare feltobservasjoner. Modellens simulering av en koloni i en vannsøyle som ble mikset over en periode, viste god overensstemmelse med tilsvarende feltobservasjoner, som f.eks. at kolonier vil flyte til overflaten etter en mikseperiode. I mikseperioden vil cyanobakterier bli eksponert for mindre

PAR ved at de føres lengre ned i vannsøylen enn det de blir under rolige forhold. Resultatet er mindre fotosynteseaktivitet og tap av ballast ved at karbohydrater forbrukes og ikke akkumuleres. Under rolige forhold vil dermed kolonien flyte til vannoverflaten og kunne danne oppblomstring siden kolonien har positiv oppdrift.

Modellen klarte å simulere effekten miksing av vannsøylen, og viste både hvor dypt populasjonen sank og hvordan oppdriften økte. Det var tydelig at forholdet mellom koloniens tetthet og miksedybde var omvendt proporsjonal. Populasjonen ble simulert på en måte som lignet naturlige populasjoners oppførsel når det oppstår vannblomst. Howard mfl. (1996) påpekte at modellen ikke tok hensyn til begrensninger i næringstilgangen. Forskning har vist at næringstilgangen påvirker oppdriften, blant annet er det vist at ved lite næringstilgang vil celleveksten begrenses, og produktene fra fotosyntesen vil i stedet akkumuleres som ballast slik at kolonien får negativ oppdrift og synker. Er tilgangen på karbon begrenset, vil fotosyntesen påvirkes negativt og produksjonen av karbohydrater reduseres slik at kolonien får positiv oppdrift og flyter til overflaten. Dette er tilpasninger som er nevnt tidligere og som gir cyanobakteriene en mulighet til å få tilgang til ny næring dypere i vannsøylen, eller tilgang på CO₂ ved vannoverflaten. For å utvikle modellen videre ble det i tillegg til å ta hensyn til næringstilgangen, foreslått at selvskyggingen til en populasjon burde tas hensyn til, siden selvskyggingen blant annet påvirker ekstinksjonskoeffisienten. I 2001 utviklet Howard (2001) SCUM`96- modellen, for at den skulle kunne anvendes på populasjoner av *Microcystis* gjennom hele året og på andre breddegrader. Flere parametere ble derfor tilført modellen, blant annet for å kunne beregne realistiske verdier for lysintensiteten ved overflaten. For å modellere variasjonene i årstidene brukte Howard (2001) likninger for å beregne strålingsvinkel (δ) (Formel 7), lengde på dagen fra morgen til kveld (D_L) (Formel 8) og maksimal stråling for en dag ved en gitt breddegrad gjennom året (I_m) (Formel 9). Strålingsvinkelen vil variere med sted, årstidene og tid på dagen og vinkelen har betydning for lysintensiteten på overflaten. Når solstrålene treffer jorda med en mindre vinkel (som er tilfelle når sola står lavt på himmelen), vil solstrålene spres over et stort område. Det betyr at energimengden fordeles på et større område, enn hvis sola står høyt på himmelen og solstrålene er mer konsentrert på et mindre område. I tillegg vil det ha noe betydning at solstrålene har en lengre vei gjennom atmosfæren når den står lavt på himmelen, enn når den står høyt på himmelen, fordi lyset vil både kunne spres, absorberes og reflekteres i atmosfæren. Howard (2001) brukte solkonstanten (I_{sc}) for beregne den maksimale daglige strålingen (I_m) (Formel 10). Solkonstanten tilsvarer 1353 W/m² som er fotonstrømmen som møter atmosfæren og som begrenses betydelig på veien gjennom atmosfæren slik at

maksimalverdien ved overflaten sjelden overstiger 900 W/m^2 . Howard (2001) beregnet overflatestrålingen (isurf) (Formel 6) som ble konvertert til PAR-stråling (lys med bølgelengde mellom 400nm-700nm) der I_0 beregnes i PPF, den fotosyntetiske fotonfluks-tettheten med benevnning i $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. PPF uttrykker antall mol fotoner per kvadratmeter per sekund. Howard (2001) tar også med i beregningene av I_0 at det skjer refleksjon av lys på overflaten og likningen tilsvarende den som Howard mfl. (1996) brukte i SCUM modellen (Formel 10, Formel 11,). Howard tar hensyn til flere faktorer for å få en mest mulig realistisk og riktig verdi på lysintensiteten siden denne anvendes i P/I-kurven som angir graden av fotosyntese. Graden av fotosyntese gir et mål på fotosynteseproduktene og hvordan disse fordeles i de tre opprettholdelse, cellevekst og ballast. Siden Howard (2001) utviklet modellen videre og også tok hensyn til vannets temperatur, måtte likningen for beregning av den faktiske fotosyntesegraden, P_{ci} , ta med en ny parameter, q_z , som angir temperaturen ved dybden z . For å kunne angi q_z på en bestemt tid, ble det først laget en profil for endringen i temperaturen ved å måle temperatur og tetthet hver time for hver 10. centimeter ned i vannsøylen. Likningene han brukte gjorde det mulig å simulere avkjøling og oppvarming av innsjøen, også når vannsøylen var mikset. Han klarte å modellere disse endringene og dermed simulere den effekten som temperaturendringene hadde på veksten og på populasjonens bevegelse i vannsøylen. Turbulensen i den miksedede delen vannsøylen vil kunne ha en betydelig effekt på en populasjons bevegelse, og dersom den overstiger et visst nivå vil det være turbulensen som er den avgjørende faktoren for populasjonens posisjon i vannsøylen. Howard (2001) brukte kjente likninger for beregning av dybden til det miksedede laget og strømningshastigheten til vannet i det miksedede laget. Dybden på det miksedede laget rett under overflaten beregnes ved å ta hensyn til solinnstrålingen som skaper en tetthetsgradient og den mekaniske energien fra vinden som skaper turbulens. Dybden på miksingens påvirkes av tetthetsgradienten og gjør at de turbulente strømmingene avgrenses til det varmere øverste laget. Howard (2001) brukte tilsvarende likninger som i SCUM-for å beregne tykkelsen på det miksedede laget og vannets turbulente hastighet. Modellen ble så brukt til å undersøke vertikale bevegelsesmønstre ved ulike breddegrader i både rolige og miksedede vannsøyler. Han kjørte simuleringer fra 7-12 måneder og koloniene av *Microcystis* viste realistiske bevegelsesmønstre i forhold til dokumenterte feltobservasjoner. I innsjøene med lite sirkulasjon viste modellen at det var en tydelig sammenheng mellom vanntemperatur og overflatestråling, og koloniens bevegelse i vannsøylen. Ved simulering av en innsjø ved breddegrad lik 53° , og med stabil miksing av vannsøylen, beveget koloniene seg i hele vannsøylen (10 m) i sommermånedene. Etter hvert som vanntemperatur og overflatestrålingen

ble redusert, ble også avstanden som koloniene beveget seg mindre. I november var de vertikale bevegelsene begrenset til det øverste laget på 1 meter og i desember oppholdt hele kolonien seg ved overflaten. Modellen forutså en sesongbestemt oppblomstring seinhøstes ved denne breddegraden. Modellen viste derimot feilaktig at populasjonen også vinterstid opprettholdt oppdriften pga. forbruket av karbohydrater. Dette stemmer ikke overens med observasjoner i felt som viser at en stor del av populasjonene sedimenterer vinterstid fordi de ikke evner å bruke ballasten i respirasjon (Visser mfl., 1997, Verspagen mfl., 2005). Et fenomen som modellen klarte å modellere, var vannblomst etter en periode med miksing av vannsøylen. Vannblomst oppstår gjerne etter en slik mikseperiode. Når vannsøylen mikses reduseres tilgangen på PAR og konsekvensen blir at det akkumuleres mindre karbohydrater slik at oppdriften øker og populasjonen flyter til overflaten eller nær overflaten. Den simulerte vannblomsten som oppsto etter en mikseperiode, varte bare ca. 6 timer før kolonien sank. Dette hadde nok sammenheng med økning i koloniens tetthet siden det akkumuleres karbohydrater når populasjonen eksponeres for PAR og næringstilgangen er god. Vannblomst som vedvarer er et fenomen som er kjent, men som Howards modell (1999, 2001) ikke omfattet. Langvarig vannblomst kan forklares med at det skjer en inhibering av fotosynteseapparatet til populasjonen i overflaten slik at produksjonen av karbohydrater blir liten og oppdriften opprettholdes. Skulle dette blitt inkludert i modellen, måtte det trekkes inn enda flere parametere for å beregne inhiberingens innflytelse på populasjonens bevegelse i vannsøylen.

En liknende studie av oppdriften til *Microcystis aeruginosa*, basert på variasjon i lysforholdene og responsen med hensyn på endring i karbohydratinnhold og tetthet, ble utført av Wallace og Hamilton i 1999. De studerte hvordan kolonier av ulik størrelse med *Microcystis* beveget seg i en vannsøyle. De observerte at koloniene trengte tid til å omstille seg når lysintensiteten ble forandret, slik tilfellet er når de beveger seg opp og ned i vannsøylen. Cellenes tetthet og økning i karbohydratinnhold justerte seg ikke umiddelbart til den nye lysstyrken. Cellene trengte tid for å omstille seg til de nye lysforholdene. Denne tiden kalte Wallace og Hamilton for responstiden, τ_r . Under responstiden observerte de at endringen i tetthet og karbohydratinnhold ikke var lineær. Tiden det tok før det innstilte seg en likevekt for tetthets- og karbohydratendring ved den bestemte lysintensiteten, var ca. 20 min. for populasjonen *Microcystis aeruginosa*. Før denne likevekten inntraff hadde ikke cyanobakteriene den optimale tetthet- og karbohydratendring som var forventet. Under responstiden akkumulerte de mindre karbohydrater enn det de gjorde ved likevekt. Dersom en populasjon stadig blir utsatt for variasjoner i lysintensiteten, vil de ikke rekke å innstille en

likevekt. Tetthetsendringen ved likevekt, D_{eq} ble beregnet med formelen til Kromkamp og Walsby (1990) som gir en regresjonslinje med c_1 som hastighetskonstant for endringen i tetthet, K_I er lysintensiteten når endringen i tetthet er halvparten av det den er ved maksimal verdi og c_3 er minimumsraten ved tetthetsreduksjon i mørke (Formel 38):

Formel 35

$$D_{eq}(I) = \frac{d\rho(I)}{dt} = c_1 \frac{I(t)}{K_I + I(t)} - c_3$$

Hvis det ikke tas hensyn til responstiden vil konsekvensen være at det blir beregnet mer akkumulert karbohydrater enn det som er tilfelle. Wallace og Hamilton (1999) tok hensyn til responstiden når de modellerte bevegelsesmønsteret til populasjoner med *Microcystis aeruginosa*. De studerte og modellerte bevegelsesmønsteret ved tre situasjoner; for turbulent miksing, for langmuirsk sirkulasjon og for en vannsøyle uten miksing. For å beregne graden av tetthetsendring ved endring av lysintensitet og med hensyn på tid og responstid brukte de følgende formel (Formel 36):

Formel 36

$$D(t) = \left(c_1 \frac{I_0}{K_I + I_0} \right) 1 - e^{-\left(\frac{t}{\tau_r}\right)}$$

Formelen for $D(t)$ ble utarbeidet ved at en mer komplisert likning for dD/dt ble løst ved hjelp av matematisk metode som f.eks. Laplace-transformasjon). Dermed kunne tettheten $D(t)$ bli beregnet slik at responstiden ble tatt hensyn til.

Modellens algoritmer ga simuleringer som stemte godt overens med målte verdier. Den bekreftet at forholdet mellom tetthetsendringer og lysintensiteten er tidsavhengig med tanke på responstiden og at responsen ikke var lineær. Dersom tiden som populasjonen eksponeres for en lysstyrke er lang i forhold til responstiden, vil D nærme seg verdien til D_{eq} . Resultatene for den stillestående vannsøylen der den dagaktive vertikale forflytningen ble simulert viste kjente tendenser for *Microcystis aeruginosa*. Resultatene for to kolonier på 200 μm og 800 μm av *Microcystis* i stillestående vannsøyle der $\tau = 0$, $\tau = 10$ og $\tau = 20$ (τ i minutter) viste at de større koloniene sank dypere enn de mindre kolonien gjorde. I simuleringen startet alle koloniene flytende i overflaten og begynte å synke ved ulike tidspunkt avhengig av deres responstid. Kolonien på 800 μm med $\tau = 0$ begynte å synke først og i tillegg dypere enn kolonien med $\tau = 20$. I simuleringene med langmuirske sirkulasjoner i vannsøylen med kolonistørrelse lik 200 μm og $\tau = 20$ og med vindstyrke lik 5ms^{-1} , beveget kolonien seg raskt

til ytterkanten (perimeter) av den langmuirske cella der den fortsatte å sirkulere til simuleringen ble avsluttet etter 12 timer. Kolonien opplevde vekslende lysstyrke og også mørke slik at tettheten kontinuerlig endret seg avhengig av lyseksposeringen. En sammenlikning av disse resultatene med simulering av tilsvarende koloni i rolig vannsøyle, viste at tettheten var lavere for kolonien i vannsøylen med langmuirsk sirkulasjon. Simulering med responstid lik null, resulterte i økt tetthet slik at oppdriften ble mindre. I simuleringen med vindhastighet lik 1ms^{-1} ble sirkulasjonshastigheten lavere i de langmuirske cellene. Kolonien beveget seg ikke til ytterkanten av de langmuirske cellene, men sirkulerte inne i cellen slik at de ikke opplevde like rask og like stor variasjon i lysintensitet. Effekten av responstiden ble dermed redusert siden D nærmet seg D_{eq} . Ved simulering av den større kolonien på $800\ \mu\text{m}$ og med vindhastighet på 5ms^{-1} , beveget koloniene seg raskt ut til ytterkanten av den langmuirske cella der den sirkulerte i omtrent to timer før den forble på overflaten i fire timer. I dette intervallet økte tettheten raskt og etter fire timer mistet den oppdriften og ble igjen fanget inn sirkulasjonene til den langmuirske cella der tetthetsøkningen ble kraftig redusert. I den siste simuleringen med en vannsøyle som var turbulent, viste resultatene at tetthetsvariasjonene var små. Koloniene var i stadig omstilling når lyseksposeringen stadig vekslet slik at D aldri nærmet seg D_{eq} . Ved simuleringer viste modellen til Wallace og Hamilton (1999) resultater som er i overensstemmelse med eksperimentelle data, og lyktes dermed å modellere den ikke-lineære responsen på variasjon i lysintensitet. Ved sammenlikning med Visser et al. (1997) sin liknende modell, fant Wallace og Hamilton (1999) at deres resultater fra simuleringen var mer sammenfallende med faktiske målte data enn det resultatene fra Visser mfl. var. Wallace og Hamilton gjorde ikke forsøk på å forklare hvorfor cyanobakteriene trengte en omstillingsperiode. Responstiden kunne ikke beregnes, men ble angitt ut i fra eksperimentelle målinger siden det er ukjent hvilke faktorer som har innvirkning på mekanismen. På populasjonen de hentet fra overflatevannet i en innsjø, viste målinger at tettheten etter 10 minutter bare var 40% av likevektstettheten og at det tok gjennomgående 20 minutter før tettheten svarte til likevektstettheten. Wallace og Hamilton (1999) foretok ikke eksperimenter og målinger for å se om responstiden faktisk er konstant, eller om den kan justeres ved at populasjonen evner å tilpasse seg et miljø med raskt varierende lysstyrker. I år 2000 kombinerte de modellen fra 1999 med en modifisert versjon av den hydrodynamiske modell, DYRESM, som simulerte ulike miksereregimer av vannsøylen (Wallace mfl., 2000). Den nye modellen ble anvendt for å simulere en situasjon med langvarig miksing i en grunn innsjø med en populasjon av *Microcystis*. Simuleringen viste at populasjonen gjennomgående hadde en responstid på 20 minutter, og at populasjonen fikk en

overdrevent positiv oppdrift og fløt til overflaten når miksing opphørte. Når det gjaldt simuleringen av større kolonier kunne oppdriftskreftene bli så store at de unngikk å bli fanget i miksing, slik at de ble værende i overflaten i to dager. Begge disse resultatene stemmer overens med observasjoner av naturlige populasjoner av *Microcystis* (Wallace mfl., 2000). I Wallace og Hamiltons forskning (1999 og 2000) introduseres en ny forklaring på hvorfor det gjerne oppstår oppblomstringer etter en periode der vannsøylen har vært mikset, og i tillegg hvorfor noen oppblomstringer kan vare i flere dager. På grunn av responstiden, vil populasjonens lagring av karbohydrater ikke være optimal under mikseperioden fordi lysintensiteten stadig endres. Populasjonens tetthet blir derfor lavere, og blir den under vannets tetthet når vannsøylen kommer til ro, vil populasjonen flyte opp til overflaten. For at oppblomstringen skal vare, må tettheten være betydelig lavere enn vannets tetthet i mikseperioden, slik at koloniens oppdriftskrefter er så sterke at den ikke blir fanget av strømninger som kan føre kolonien nedover i vannsøylen. I en oppblomstringsperiode over flere dager, utsettes kolonien for høy lysintensitet, og fotosyntese-apparatet kan skades slik at den positive oppdriften vedvarer siden det akkumuleres mindre karbohydrater. Det er blitt gjort observasjoner av kolonier som har forblitt levedyktige under slike ekstreme forhold fordi de har tilpasset seg forholdene. Når det oppsto sterk vind, ble de igjen ført ned i vannsøylen der forholdene ga ny vekst. Simuleringene viste at de små koloniene hadde et lengre opphold i den miksede vannsøylen enn de større koloniene. For de små koloniene var turbulenskreftene sterke nok til å holde kolonien i det miksede laget, mens dette ikke var tilfelle for de større koloniene. Oppdriften til de store og de små koloniene var derfor ulike når vannsøylen roet seg, og de små koloniene hadde en bedre oppdrift enn de større koloniene og oppholdt seg dermed lengre i overflaten. Oppdriften til de større koloniene ble negativ ut på dagen, som følge av akkumulering av karbohydrater, og koloniene sank ned i vannsøylen. Oppdriften for de små koloniene forble positiv i en lengre periode før det endelig var akkumulert nok karbohydrater til å gi negativ oppdrift. I grunne godt miksede innsjøer betyr dette at det er de mindre koloniene som representerer de vedvarende oppblomstringene. Dette er fordi de blir fanget i de turbulente strømningene og vil oppleve å være i en kontinuerlig omstillingsperiode der akkumuleringen av ballast ikke er like god som den er når kolonien har tilpasset seg lysforholdene. Når modellen ble anvendt på en populasjon i en vannsøyle uten miksing, liknet resultatene mye på tidligere modelleringer som ikke opererer med responstid. Dette har nok sammenheng med at lys-endringene ikke er så store i rolige vannsøyer og responstiden blir dermed av mindre betydning med tanke på koloniens tetthetsendringer.

5 Oppsummering.

Regulering av oppdriften gir cyanobakterier mange fordeler, som f.eks. lavere sedimentering, god tilgang på lys og CO₂ i overflaten og næringsstoffer i dypet i stratifiserte innsjøer (Chumfl., 2007). Mekanismene som regulerer oppdriften til cyanobakterier, er mengde ballast og mengde gassvesikler, og disse mekanismene påvirkes av både lys og næringsstoffer. Celleballast avhenger av akkumulering og forbruk av lagrede molekyler som i hovedsak er karbohydrater. Mengde gassvesikler avhenger av produksjon, uttynning og kollaps av vesiklene.

Mengde karbohydrater bestemmes blant annet av graden av fotosyntese som igjen bestemmes av lystilgangen. Forbeholdt riktige lysforhold og riktig næringstilgang, vil det kunne akkumuleres karbohydrater i cellene som ikke brukes i respirasjonen eller i metabolske prosesser. Det er denne andelen som fungerer som ballast ved at tettheten i cellene øker. På natta eller når populasjonen synker dypere enn den eufotiske sone, vil fotosyntesen opphøre/redueres og lageret med karbohydrater forbrukes slik at mengden reduseres og cellenes tetthet blir lavere. Lysregimet kan også påvirkes av strømninger i vannsøylen, og cellene kan dermed oppleve raske skiftninger i lysintensitet, i kontrast til stabile lysforhold i rolige vannsøyler. Studier har vist at veksten er mer effektiv under korte sykluser med lys-mørke, enn ved kontinuerlig lys. Årsaken til dette er at det i mørkeperioden blir dannet proteiner, nukleinsyrer og pigmenter av overskuddet av karbohydrater som har blitt akkumulert i lysperioden (Foy og Smith, 1980).

Når cellenes tetthet blir lavere enn vannets tetthet, vil cellene igjen få positiv oppdrift og populasjonen vil flyte oppover i vannsøylen. Akkumuleringen av et lager med karbohydrater i cellene, eller reduksjon av dette lageret pga. respirasjon eller omdannelse til andre bestanddeler med lavere tetthet, påvirker oppdriften på kort sikt. Hvordan karbohydratene akkumuleres og inkorporeres i andre komponenter, reguleres både av lys og næringsstoffer. Ser man f.eks. på forholdet mellom karbohydrater og proteiner, er andelen karbohydrater høyere i nitrogenbegrensede- enn i karbonbegrensede kulturer. Cellene kan f.eks. nyttiggjøre seg karbohydratreservene til proteinsyntese, hvis de får tilførsel av næring. Denne assimileringen av fotosynteseprodukter vil også kunne redusere turgortrykket (Klemer mfl., 1996).

Hvis lystilgangen er i overskudd i forhold til vekstmuligheter pga. et begrensende næringsstoff, vil karbohydratene akkumuleres i cellene i stedet for å brukes til vekst. Lageret gjør at cellenes tettet øker, og i noen arter vil gassvesikkelproduksjonen reduseres. Gassvesikkelkollaps kan også inntreffe pga. økt turgortrykk. Når det er nok næringstilgang vil karbohydratlagrene øke avhengig av lystilgangen. Når lysintensiteten når metningspunktet for fotosyntese, vil derimot lagringen begrenses og karbohydratene vil hovedsakelig bli brukt til vekst. Når lystilgangen og næringstilgangen er balansert, vil det være optimal bruk av karbohydrater med tanke på vekst og lagring av karbohydrater reduseres (Brookes og Ganf, 2001). Cyanobakterier kan øke mengden av pigmentet fykocyanin når lysintensiteten blir lav og på den måten øke fotosyntese-effektiviteten (Foy og Gibson, 1982). Lagring av karbohydrater som polysakkarider skjer som en respons på overflødig fotosynteseprodukter, og reduserer oppdriften slik at cellene kan synke (Kromkamp mfl., 1986). Likeså kan forandringer i andre bestanddeler i cellen også påvirke oppdriften. For eksempel vil cyanobakterier i innsjøer med mye fosfat, kunne lagre polyfosfater i granulater som bidrar til økt balast. Karbonet i cellene forekommer henholdsvis som karbohydrater fra fotosyntesen med lav molekylvekt, som indre karbonreserver, og som den strukturelle biomassen. Karbohydratene fra fotosyntesen brukes til å bygge opp cellenes karbonreserver, eller de kan brukes i de strukturelle komponenter i cellene. I tillegg tilfører de energi gjennom respirasjon for vedlikehold av cellene og biosyntese. Karbohydrater med lav molekylvekt kommer også fra katabolisme av karbohydratreservene, og slik kan biosyntesen fortsette også i mørket ved å bruke karbonet som er fiksert gjennom dagen. Ulike former for karbohydrater har forskjellige roller i reguleringen av oppdrift og i interaksjonen med næringsstoffer og lys. Metabolske prosesser som raskt forandrer størrelsen på karbohydratreservene vil ha stor betydning for reguleringen av oppdriften, siden reservene gir cellene ballast (Wallace og Hamilton, 1999). Ved begrenset vekst pga. begrensnings i næringsstoffene nitrogen og fosfor (gjelder også ved langvarig mangel på karbon), akkumuleres karbohydrater og cellene mister oppdriften. Når derimot alle disse næringsstoffene er i overskudd, vil oppdriften reguleres av hvor tilfredsstillende lysforholdene er med tanke på cellenes vekst. Hvis lysfangsten er lav, vil lageret av karbohydrater brukes og oppdriften vil øke. Cellene vil dermed flyte oppover i vannsøylen der lysforholdene er bedre. For noen arter som f.eks. *Aphanizomenon flos-aquae* vil oppdriften øke ytterligere fordi arten responderer på lav lysintensitet ved å øke produksjonen av gassvesikler (Klemer mfl., 1982). Karbonbegrensning vil i første omgang føre til økt oppdrift, pga. uttømming av karbohydratreservene (Klemer mfl., 1982). Langvarig

karbonbegrensning vil derimot føre til begrenset syntese av gassvesikler og cellene vil etterhvert miste oppdriften (Klemer mfl., 1996).

Regulering av mengde gassvesikler er en mekanisme som påvirker oppdriften, og mengde gassvesikler avhenger av produksjon, uttynning og vesikkelkollaps. Produksjonen av gassvesikler avhenger både av lys og næringsstoffer som nitrogen og karbon (Kromkamp mfl., 1989, Deacon og Walsby, 1990, Klemer mfl., 1996, Brookes og Ganf, 2001). Brookes og Ganf (2001) viste at både lyshistorikken og næringshistorikken har betydning for det relative gassvesikkelvolumet. For celler der lyshistorikken tilsvarte høy lysintensitet var veksthastigheten kraftigst og uttynningen av gassvesikler størst. Kollaps av gassvesikler forårsakes av for høyt turgortrykk eller for høyt hydrostatisk trykk. Turgortrykket kan knyttes til lys og næringsstoffer ved at trykket øker pga. produksjon av karbohydrater med lav molekylvekt. Turgortrykket kan også øke ved at cellene hamstrer fosfat eller ved opptak av kaliumioner (K^+) (Gjølme mfl., 2010). Høyt hydrostatisk trykk kan de utsettes for hvis de synker for dypt eller fanges av strømminger som fører de dypt i vannsøylen.

Chu mfl. (2007) viste at gassvesikkelvolumet per celle gikk ned ved nitrogenbegrensning og fosforbegrensning. Nedgangen var størst ved nitrogenbegrensning. De mente at årsaken til dette var mangelen på nødvendige proteiner i cellene til å produsere nye gassvesikler. Måleresultatene deres underbygde dette ved at forandringen i proteininnholdet var lik forandringen i gassvesikkelinnholdet under næringsbegrenset vekst. Denne forskningen stemmer overens med tidligere forskning på slektene *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* og *Oscillatoria* (Klemer mfl., 1982, Kromkamp mfl., 1989, Brookes mfl., 1999, Brookes og Ganf, 2001). Studiet til Kromkamp mfl (1989) viste at fosfattilskudd til en fosforbegrenset kultur resulterte i økt oppdrift, men at dette gjaldt under gitte lysforhold. For kulturer som ble lyseksonert tok det minst 10 timer før cellene begynte å produsere nye gassvesikler. Produksjonen av gassvesikler var ikke bare lysavhengig, men også avhengig av tidspunktet for lyseksonering som måtte være minst fem timer etter at fosfattilskuddet var gitt. I tillegg hadde lysintensiteten betydning for produksjonen og var maksimal ved lysmetning (Kromkamp mfl., 1989).

Chu mfl (2007) fant at når næringsforholdene var gode, hadde cellene et overskudd av gassvesikler, slik at selv om gassvesikkelvolumet ble redusert og karbohydratinnholdet økte, mistet de ikke oppdrift. Mens cellene med størst nitrogenbegrensning mistet oppdriften og sank, holdt cellene med størst fosforbegrensning seg flytende. Siden forskningen viser at nitrogenbegrensning forårsaker et større tap av oppdrift enn det gjør ved fosfatbegrensning,

betyr det at overflateoppblomstringer kan forsvinne og oppstå mer regelmessig i innsjøer med nitrogenbegrensning. For fosforbegrensede innsjøer vil derimot oppblomstringene i overflaten vedvare og holde seg lenger (Chu mfl., 2007). Den daglige vertikale forflytningen til *Microcystis* i vannsøylen har gjerne blitt forklart med at karbohydrater akkumuleres og forbrukes. Turgortrykket har mindre betydning siden deres gassvesikler er så sterke at vesiklene sjelden kollapser (Visser mfl., 1997). I Chu mfl (2007) sin studie var det cellenes næringstilstand som påvirket akkumuleringen og forbruket av karbohydrater. Den daglige forandringen i karbohydrater var avhengig av innholdet av gassvesikler, som var bestemt av cellenes næringstilstand. Selv om det ble akkumulert mye karbohydrater når cellenes næringstilstand var god, hadde de et så stort overskudd av gassvesikler at antall celler som mistet oppdrift og sank var ubetydelig. Når celleveksten gikk ned pga. begrenset næring, ble derimot produksjonen av gassvesikler mindre og antallet gassvesikler gikk ned ved at celledelingen resulterte i uttynning av gassvesikler i cellene. Dette gjaldt i større grad for celler med lav nitrogentilgang, og for disse cellene ble den daglige forandringen i karbohydrater viktigere med tanke på oppdriften. I cellene med lite fosfat hadde ikke endringen i karbohydratinnhold noen særlig betydning, siden cellene hadde hatt såpass stort overskudd av gassvesikler før fosfortilgangen ble redusert.

Variasjonene i responsen på lys og næringsstoffer avhenger også av lys og næringshistorikken til cellene eller kolonien. Selv om kolonier eksponeres for sammen lysregime, vil de respondere ulikt, avhengig av koloniens lyshistorikk og næringshistorikk (Brookes og Ganf, 2001). Kromkamp mfl. (1989) registrerte f.eks. ingen produksjon av gassvesikler i mørket, i motsetning til Deacon og Walsby (1990). Med god lyshistorikk vil cellene kunne produsere gassvesikler også i mørket. Det er ikke mulig å gi et entydig bilde av responsmønsteret til cyanobakterier, siden de responderer ulikt og det også er snakk om både kortsiktige og mer langsiktige responsmekanismer. Reguleringen av oppdriften kan gi en kortvarig effekt slik tilfellet er når den reguleres med endring i ballast, eller en mer langvarig effekt slik tilfellet er ved regulering av gassvesikler. Responsmekanismene som knytter seg til lys og næringsstoffer kan ikke studeres uten at cellenes tilstand og miljøet rundt trekkes inn i analysen. Cyanobakteriers fysiologiske respons avhenger ikke bare av ulike fysiske og kjemiske faktorer i miljøet, men også av interaksjonen mellom de ulike faktorer. Det er også respons-variasjoner innenfor samme populasjon. Når det gjelder mengde gassvesikler i cellene og graden av fotosyntese i cellene viste Oliver mfl. (2012) at det var individuelle forskjeller. De mente at det kunne skyldes at cellene har forskjellig alder og er i forskjellige stadier i celledelingen.

Hensikten med å presentere ulike modeller som simulerer cyanobakteriers bevegelse i vannsøylen, var å øke forståelsen av interaksjonen mellom de mange faktorene som påvirker oppdriften hos cyanobakterier og å vise hvilke utfordringer forskere har i en slik oppgave. En modell som kan forutsi dannelsen eller opphøret av cyanobakterie-oppblomstringer vil være et godt verktøy ved overvåkning av vannreservoarer. Å modellere en dynamikk av ulike responser på en rekke stimuli-faktorer, krever en rekke algoritmer og parametere. Forskere som tar på seg en slik oppgave må ta mange hensyn og foreta mange valg basert på god kunnskap. For eksempel så må de ha kunnskap om prosessene i en innsjø, og hvordan komposisjonen av arter av fytoplankton er gjennom sesongen, og hvordan denne komposisjonen skifter ved miljøendringer. De må ha kunnskap om oppdriftsreguleringer, organismenes evne til å lagre næringsstoffer og evne til å absorbere lys med forskjellige bølgelengder. De må ha kunnskap om organismens metabolisme i cellene (både katabolisme og anabolisme) og forskjeller blant arter av cyanobakterier.

Skal cellulære komplekse prosesser, og prosesser i og mellom populasjoner modelleres, kreves det solid kunnskap om samspillet mellom hydrodynamikk, biogeokjemi og fysiologien til cyanobakterier. For å få til en god modellering, vil det være et stort behov for samarbeid blant forskere med variert kunnskap og kompetanse.

Næringsstoffer har betydning for oppdriften til cyanobakterier, og forsøk viser en tendens til tap av oppdrift ved begrensning av nitrogen og fosfat. Det bør derfor settes inn tiltak som reduserer næringstilgangen i innsjøer ved f.eks. å redusere mengde gjødsel, forbedre avløpsrensing o.l. Allikevel er det faktoren lys, som er av størst betydning for oppdriften til cyanobakterier, og for å forhindre dannelsen av vannblomst bør det settes inn tiltak som reduserer cyanobakterienes lyseksposering. Lamberts-Beers lov viser at lysintensiteten reduseres eksponentielt nedover i vannsøylen. Ved kunstig miksing av vannsøylen i en innsjø, vil det være mulig å forhindre at filamenter og kolonier av cyanobakterier flyter opp i vannsøylen hvor lysforholdene er gode. Hvis cyanobakteriene fanges i vannsøylens kunstige sirkulasjon, og innsjøen er dyp nok, vil lyseksposeringen kunne bli så lav at vekstforholdene forringes. Slik kan populasjonen av cyanobakterier holdes lav eller bli utkonkurrert av andre fytoplankton. Forsøk med miksing av vannsøylen i innsjøer, har vist at grønnalger og diatomer kan utkonkurrere cyanobakterier (Visser mfl., 2015). Årsaken er at de har høyere veksthastighet, og at de unngår sedimentering når vannsøylen mikses. Det er også andre fordeler ved kunstig miksing av en innsjøes vannsøyle. Fordelingen av næringsstoffer og gasser vil fordeles jevnt i vannsøylen og oksygentilførsel til hypolimnion vil kunne forhindre

at fosfat i sedimentene løses til vannmassen. For at miksing av vannsøylen skal ha den ønskede effekt, må man passe på at miksehastigheten er stor nok. Store kolonier beveger seg raskt i en vannsøyle, og vannsøylens miksehastighet må være høyere enn kolonienes egen flyte og synkehastighet. I tillegg bør miksing skje kontinuerlig. Det vil kunne oppstå store oppblomstringer hvis populasjonen er stor og miksing opphører. Miksing bør i tillegg berøre hele innsjøen, slik at ikke deler av innsjøen får oppblomstringer fordi miksing ikke er tilfredsstillende. Miksing av vannsøylen er et eksempel på tiltak som har vist seg å være effektiv for å forhindre vannblomst av mange slekter av cyanobakterier (Visser mfl., 2015). Konsekvensene av vannblomst er såpass kritiske i dag, at det anses som viktig at det settes inn tiltak til tross for tiltakenes høye kostnader.

6 Referanser

- BROOKES, J. D. & GANF, G. G. (2001) Variations in the buoyancy response of *Microcystis aeruginosa* to nitrogen, phosphorus and light. *Journal of Plankton Research*, 23, 1399-1411.
- BROOKES, J. D., GANF, G. G., GREEN, D. & WHITTINGTON, J. (1999) The influence of light and nutrients on buoyancy, filament aggregation and flotation of *Anabaena circinalis*. *Journal of Plankton Research*, 21, 327-341.
- BRUNBERG, A.-K. & BLOMQVIST, P. (2002) Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. *Journal of Plankton Research*, 24, 1247-1252.
- CALLIERI, C., CRONBERG, G. & STOCKNER, J. (2012) Freshwater Picocyanobacteria: Single Cells, Microcolonies and Colonial Forms. I WHITTON, B. A. (Red.) *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer Netherlands.
- CHU, Z., JIN, X., YANG, B. & ZENG, Q. (2007) Buoyancy regulation of *Microcystis flos-aquae* during phosphorus-limited and nitrogen-limited growth. *Journal of Plankton Research*, 29, 739-745.
- CHUG, R. & MATHUR, S. (2013) Extracellular Polymeric Substances from Cyanobacteria: Characteristics, Isolation and Biotechnological Applications-A Review. *Int. J. Adv. Eng. Sci. Technol.* 2013, 3, 49-53.
- DEACON, C. & WALSBY, A. E. (1990) Gas vesicle formation in the dark, and in light of different irradiances, by the cyanobacterium *Microcystis* sp. *British Phycological Journal*. Taylor & Francis Group.
- DOWNING, J. A., WATSON, S. B. & MCCAULEY, E. (2001) Predicting Cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 1905-1908.
- ENRIQUE, F. & ANTONIA, H. (2009) Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 39.
- FOY, R. H. & GIBSON, C. E. (1982) Photosynthetic characteristics of planktonic blue-green algae: Changes in photosynthetic capacity and pigmentation of *Oscillatoria redekei* van Goor under high and low light. *British Phycological Journal*, 17, 183-193.
- FOY, R. H. & SMITH, R. V. (1980) The role of carbohydrate accumulation in the growth of planktonic *Oscillatoria* species. *British Phycological Journal*, 15, 139-150.
- GANF, G. G. & OLIVER, R. L. (1982) Vertical Separation of Light and Available Nutrients as a Factor Causing Replacement of Green Algae by Blue-Green Algae in the Plankton of a Stratified Lake. *Journal of Ecology*, 70, 829-844.
- GJØLME, N., KROHG, T. & UTKILEN, H. (2010) Cyanobakterier (blågrønnalger): oppblomstring og toksinproduksjon. I KROGH, T. & UTKILEN, H. C. (Red.). Oslo, Folkehelseinstituttet. Rapport 2010:4
- GROSSMAN, A. R., SCHAEFER, M. R., CHIANG, G. G. & COLLIER, J. L. (1993) The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiological Reviews*, 57, 725-749.

- HAYES, P. K., BUCHHOLZ, B. & WALSBY, A. E. (1992) Gas vesicles are strengthened by the outer-surface protein, GvpC. *Archives of Microbiology*, 157, 229-234.
- HAYES, P. K., LAZARUS, C. M., BEES, A., WALKER, J. E. & WALSBY, A. E. (1988) The protein encoded by gvpC is a minor component of gas vesicles isolated from the cyanobacteria *Anabaena flos-aquae* and *Microcystis* sp. *Molecular Microbiology*, 2, 545-52.
- HELM, R. & POTTS, M. (2012) Extracellular Matrix (ECM). I WHITTON, B. A. (Red.) *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer Netherlands.
- HENSE, I. & BECKMANN, A. (2006) Towards a model of cyanobacteria life cycle—effects of growing and resting stages on bloom formation of N₂-fixing species. *Ecological Modelling*, 195, 205-218.
- HOWARD, A. (2001) Modeling movement patterns of the cyanobacterium, *Microcystis*. *Ecological Applications*, 11, 304-310.
- HOWARD, A., IRISH, A. E. & REYNOLDS, C. S. (1996) A new simulation of cyanobacterial underwater movement (SCUM'96). *Journal of Plankton Research*, 18, 1375-1385.
- KALFF, J. (2002) *Limnology: inland water ecosystems*, Upper Saddle River, N.J, Prentice Hall.
- KLEMER, A. R., CULLEN, J. J., MAGEAU, M. T., HANSON, K. M. & SUNDELL, R. A. (1996) Cyanobacterial buoyancy regulation: the paradoxical roles of carbon. 1. *Journal of Phycology*, 32, 47-53.
- KLEMER, A. R., FEUILLADE, J. & FEUILLADE, M. (1982) Cyanobacterial blooms: carbon and nitrogen limitation have opposite effects on the buoyancy of oscillatoria. *Science*, 215, 1629-31.
- KRAVCHUK, E., IVANOVA, E. & GLADYSHEV, M. (2006) Seasonal dynamics of akinetes of *Anabaena flos-aquae* in bottom sediments and water column of small Siberian reservoir. *Aquatic Ecology*, 40, 325-336.
- KROMKAMP, J., KONOPKA, A. & MUR, L. R. (1986) Buoyancy Regulation in a Strain of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanophyceae): the Importance of Carbohydrate Accumulation and Gas Vesicle Collapse. *Journal of General Microbiology*, 132, 2113-2121.
- KROMKAMP, J., VAN DEN HEUVEL, A. & MUR, L. R. (1989) Formation of Gas Vesicles in Phosphorus-limited Cultures of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of General Microbiology*, 135, 1933-1939.
- KROMKAMP, J. & WALSBY, A. E. (1990) A computer model of buoyancy and vertical migration in cyanobacteria. *Journal of Plankton Research*, 12, 161-183.
- LATIFI, A., RUIZ, M. & ZHANG, C.-C. (2009) Oxidative stress in cyanobacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 33, 258-278.
- LI, S. & SONG, J. (2012) The spacing of Langmuir circulation under modest wind. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 30, 690-696.
- MATTHIJS, H. C. P., VISSER, P. M. & HUISMAN, J. (2005) *Harmful cyanobacteria*, Dordrecht, Springer.

- MUR, L. R., SKULBERG, O. M. & UTKILEN, H. (1999) cyanobacteria in the environment. ICHORUS, I. & BARTRAM, J. (Red.) *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management*. New York, E & FN Spon.
- NISHIYAMA, Y., ALLAKHVERDIEV, S. & MURATA, N. (2005) Inhibition of the repair of Photosystem II by oxidative stress in cyanobacteria. *Photosynthesis Research*, 84, 1-7.
- OLIVER, R. L., HAMILTON, D. P., BROOKES, J. D. & GANF, G. G. (2012) Physiology, Blooms and Prediction of Planktonic Cyanobacteria. I WHITTON, B. A. (Red.) *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer Netherlands.
- PAUL, V. (2008) Global warming and cyanobacterial harmful algal blooms. I HUDNELL, H. K. (Red.) *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*. Springer New York.
- PFEIFER, F. (2006) Gas Vesicles of Archaea and Bacteria. I SHIVELY, J. (Red.) *Complex Intracellular Structures in Prokaryotes*. Springer Berlin Heidelberg.
- PFEIFER, F. (2012) Distribution, formation and regulation of gas vesicles. *Nature Reviews Microbiology*, 10, 705.
- REYNOLDS, C. (2007) Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. *Hydrobiologia*, 578, 37-45.
- REYNOLDS, C. S., OLIVER, R. L. & WALSBY, A. E. (1987) Cyanobacterial dominance: The role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21, 379-390.
- ROHRLACK, T., EDVARDBSEN, B., SKULBERG, R. (2008) Oligopeptide chemotypes of the toxic freshwater cyanobacterium *Planktothrix* can form subpopulations with dissimilar ecological traits. *American society of Limnology and Oceanography, Inc*, 53, 1279-1293.
- SCHMIDT, T. M. & SCHAECHTER, M. (2012) *Topics in Ecological and Environmental Microbiology*, Academic Press.
- ŠEJNOHOVÁ, L. & MARŠÁLEK, B. (2012) Microcystis. I WHITTON, B. A. (Red.) *Ecology of Cyanobacteria II*. Springer Netherlands.
- SEJNOHOVÁ, L., MASARYKOVA, U., USTAV BOTANIKY A, Z. & BOTANICKÝ, Ú. (2008) Microcystis : new findings in peptide production, taxonomy and autecology by cyanobacterium *Microcystis* = nové poznatky v produkci peptidu, taxonomii a autekologii sinice *Microcystis* Ph.D. Thesis. Pruhonice, Institut of Botany, Czech Academy of Sciences.
- STRUNK, T., HAMACHER, K., HOFFGAARD, F., ENGELHARDT, H., ZILLIG, M. D., FAIST, K., WENZEL, W. & PFEIFER, F. (2011) Structural model of the gas vesicle protein GvpA and analysis of GvpA mutants in vivo. *Molecular Microbiology*, 81, 56-68.
- THOMAS, R. H. & WALSBY, A. E. (1985) Buoyancy Regulation in a Strain of *Microcystis*. *Journal of General Microbiology*, 131, 799-809.
- TOOMING-KLUNDERUD, A., SOGGE, H., ROUNGE, T. B., NEDERBRAGT, A. J., LAGESEN, K., GLOCKNER, G., HAYES, P. K., ROHRLACK, T. & JAKOBSEN, K. S. (2013) From green to red: horizontal gene transfer of the phycoerythrin gene cluster between *Planktothrix* strains. *Appl Environ Microbiol*, 79, 6803-12.

- VERMAAS, W. F. J. (2001) Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria.. John Wiley & Sons, Ltd.
- VERSPAGEN, J. M. H., SNELDER, E. O. F. M., VISSER, P. M., JÖHNK, K. D., IBELINGS, B. W., MUR, L. R. & HUISMAN, J. (2005) Benthic–pelagic coupling in the population dynamics of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. *Freshwater Biology*, 50, 854-867.
- VISSER, P., KETELAARSL, H., BREEMEN, L. & MUR, L. (1996) Diurnal buoyancy changes of *Microcystis* in an artificially mixed storage reservoir. *The International Journal of Aquatic Sciences*, 331, 131-141.
- VISSER, P., PASSARGE, J. & MUR, L. (1997) Modelling vertical migration of the cyanobacterium *Microcystis*. *The International Journal of Aquatic Sciences*, 349, 99-109.
- VISSER, P. M., IBELINGS, B. W. & MUR, L. R. (1995) Autumnal sedimentation of *Microcystis* spp. as result of an increase in carbohydrate ballast at reduced temperature. *Journal of Plankton Research*, 17, 919-933.
- VISSER, P. M., HUISMAN, J., IBELINGS, B. W. & BORMANS, M. (2015) Artificial mixing to control cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology*.
- WALLACE, B. B. & HAMILTON, D. P. (1999) The effect of variations in irradiance on buoyancy regulation in *Microcystis aeruginosa*. *Limnology and Oceanography*, 44, 273-281.
- WALLACE, B. B., BAILEY, M. C. & HAMILTON, D. P. (2000) Simulation of vertical position of buoyancy regulating *Microcystis aeruginosa* in a shallow eutrophic lake. *Aquatic Sciences*, 62, 320-333.
- WALSBY, A. E. (1994) Gas vesicles. *Microbiol Rev*, 58, 94-144.
- WALSBY, A. E. (2001) Determining the photosynthetic productivity of a stratified phytoplankton population.(Author abstract)(Report). *Aquatic Sciences - Research Across Boundaries*, 63, 18.
- WALSBY, A. E. & BLEYTHING, A. (1988) The Dimensions of Cyanobacterial Gas Vesicles in Relation to Their Efficiency in Providing Buoyancy and Withstanding Pressure. *Journal of General Microbiology*, 134, 2635-2645.
- WALSBY, A. E., DUBINSKY, Z., KROMKAMP, J. C., LEHMANN, C. & SCHANZ, F. (2001) The effects of diel changes in photosynthetic coefficients and depth of *Planktothrix rubescens* on the daily integral of photosynthesis in Lake Zürich. *Research across Boundaries*, 63, 326-349.
- WALSBY, A. E., HAYES, P. K., BOJE, R. & STAL, L. J. (1997) The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New Phytologist*, 136, 407-417.
- WALSBY, A. E., NG, G., DUNN, C. & DAVIS, P. A. (2004) Comparison of the depth where *Planktothrix rubescens* stratifies and the depth where the daily insolation supports its neutral buoyancy. *New Phytologist*, 162, 133-145.
- WALSBY, A. E., UTKILEN, H. C. & JOHNSEN, I. J. (1983) Buoyancy changes of red coloured *Oscillatoria agardhii* in Lake Gjersjøen, Norway. *Archiv für Hydrobiologi*, 97, 18-31.

- WANG, T., KANG, L., LI, J., WU, W., ZHANG, P., GONG, M., LAI, W., ZHANG, C., CHANG, L., PENG, Y., YANG, Z., LI, L., BAO, Y., XU, H., ZHANG, X., SUI, Z., YANG, G. & WANG, X. (2014) Floating *Escherichia coli* by expressing cyanobacterial gas vesicle genes. *Journal of Ocean University of China*, 1-5.
- WHITELAM, G. & COLD, G. (1983) Photoinhibition of photosynthesis in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *An International Journal of Plant Biology*, 157, 561-566.
- WHITTON, B. A. & CARR, N. G. (1982) *The Biology of cyanobacteria*, Oxford, Blackwell.
- WHITTON, B. A. & POTTS, M. (2000) The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. I WHITTON, B. A. & POTTS, M. (Red.). Boston, Kluwer Academic.
- WU, X., KONG, F. & ZHANG, M. (2011) Photoinhibition of colonial and unicellular *Microcystis* cells in a summer bloom in Lake Taihu. *The Japanese Society of Limnology*, 12, 55-61.
- ØKLAND, J. (1979) *Ferskvannssøkologi*, Oslo, Universitetsforlaget.

Internettreferanser:

- miljolare.no
<https://www.miljolare.no/aktiviteter/vann/natur/vn21/?vis=veiledning> lest 20.09.2015
- wikipedia.no
 1. <https://no.wikipedia.org/wiki/Innsj%C3%B8> lest 12.06.2014
 2. <https://no.wikipedia.org/wiki/Langmuirsirkulasjon> lest 20.06.2014
 3. https://en.wikipedia.org/wiki/PI_curve lest 28.05.2015
- wikipedia.org
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/62/PI.gif> lest 18.08.2015
- geo.mtu.edu
<http://www.geo.mtu.edu/KeweenawGeoheritage/Lake/Seiches.html> lest 24.07 2014
- microbiologybytes.com
<http://www.microbiologybytes.com/cgi-sys/suspendedpage.cgi> lest 28.05.2014
- cronodon.com
<http://cronodon.com/BioTech/Cyanobacteria.html> lest 02.05.2015
- spektrum.de
<http://www.spektrum.de/lexika/images/bio/f3f3294.jpg> lest 28.11.2014

koofers.com

http://koofers-static.s3.amazonaws.com/flashcard_images/639acead97dd52bacd11dc04a4a2e7b0.jpg lest 28.04.2015

<http://journal.frontiersin.org/>
http://www.frontiersin.org/files/Articles/11696/fpls-02-00028-HTML/image_m/fpls-02-00028-g002.jpg lest 18.04.2015

Kenneth Todar, 2015 Online Textbook of Bacteriology
Lest 18/06 2015, Tilgjengelig fra:
http://textbookofbacteriology.net/growth_3.html

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9861/figure/A1672/?report=objectonly> lest 14.01.2015