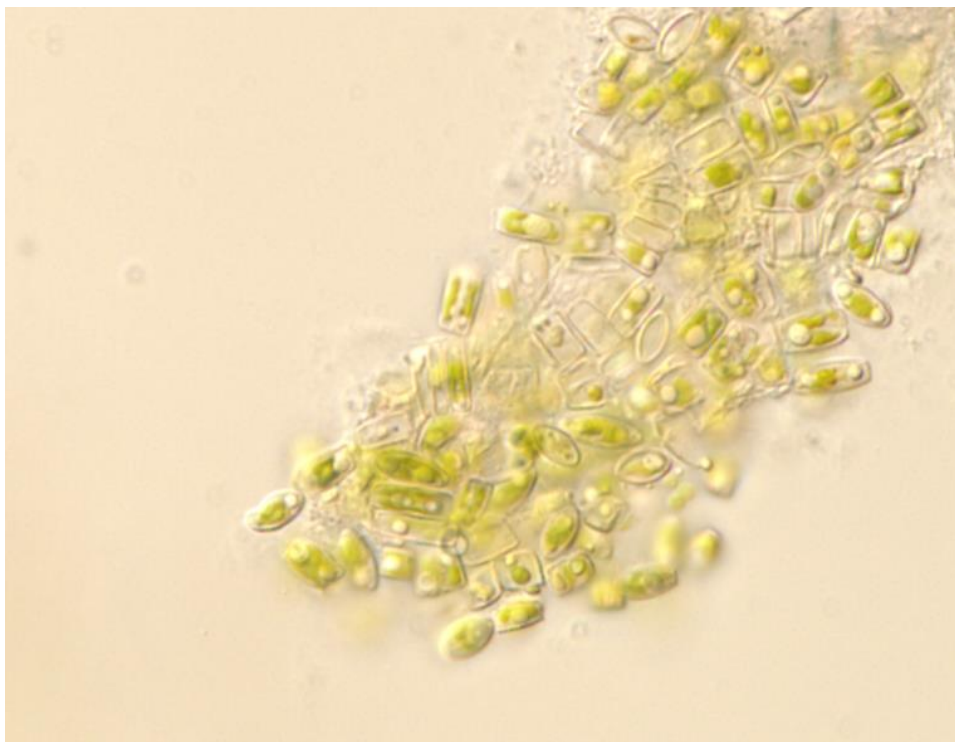


# Kiselalgers anpassning till ljus, en jämförelse mellan *Brachysira neoexilis* och *Eunotia incisa*

*Diatoms adaptations to light, a study of Brachysira neoexilis and Eunotia incisa*

Ylva Friheden



Examensarbete/självständigt arbete • [15] hp

Biologi och miljövetenskap

Uppsala 2019



# Kiselalgers anpassning till ljus, en jämförelse mellan *Brachysira neoexilis* och *Eunotia incisa*

*Diatoms adaptations to light, a study of Brachysira neoexilis and Eunotia incisa*

Ylva Friheden

**Handledare:** Maria Kahlert, SLU, Institutionen för vatten och miljö  
**Bitr. handledare:** Bonnie Bailet, SLU, Institutionen för vatten och miljö  
**Examinator:** Tobias Vrede, SLU, Institutionen för vatten och miljö

**Omfattning:** [15] hp  
**Nivå och fördjupning:** Kandidatarbete  
**Kurstitel:** Självständigt arbete i Miljövetenskap, G2  
**Kursansvarig institution:** Institutionen för vatten och miljö  
**Kurskod:** EX0896  
**Program/utbildning:** Biologi och miljövetenskap  
**Omslagsbild:** Samodlat prov av *Brachysira neoexilis* och *Eunotia incisa*. Foto: Ylva Friheden

**Utgivningsort:** Uppsala  
**Utgivningsår:** 2019  
**Elektronisk publicering:** <https://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Kiselalger, Bacillariophyceae, tillväxtexperiment, ljusintensitet

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap (NJ)  
Institutionen för vatten och miljö

## Sammanfattning

Syftet med denna studie är att undersöka ljuspreferenserna hos kiselalgerna *Brachysira neoexilis* (BNEO) och *Eunotia incisa* (EINC), alltså vid vilka ljusintervall de har störst tillväxt. I samband med vattenkvalitetsundersökningar så skulle kunskapen om hur ljus påverkar kiselalgernas tillväxt minska den osäkerhet som finns kring hur andra påverkansfaktorer, förutom näring och organiska ämnen faktiskt kan påverka vattenkvalitetsindex. Studien innefattar ett experiment var tillväxten av algerna BNEO och EINC mättes vid olika ljusnivåer under en tidsperiod av 21 dagar samt en litteraturstudie vilken undersökte om det fanns andra studier som beskriver ljuspreferenser av olika fastsittande sötvattenskiselalger. BNEO visade tillväxt vid flertalet ljusnivåer och hade högst tillväxt vid 20–40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , vilket motsvarar ett naturligt ljus vid ca 2–3 meters djup. Det fanns svårigheter med att jämföra BNEO och EINC, då EINC inte visade någon tillväxt.

**Nyckelord:** Kiselalger, Bacillariophyceae, tillväxtexperiment, ljusintensitet.

## **Abstract**

The Object of this study is to examine the light preferences of the diatoms *Brachysira neoexilis* (BNEO) and *Eunotia incisa* (EINC), thus in which light interval they would have the highest growth. In conjunction with water quality studies, the knowledge about how light affects the growth of diatoms could reduce the uncertainty surrounding how other impact factors, in addition to nutrients and organic substances, can affect water quality index. The study included an experiment where the growth of algae BNEO and EINC were measured at different light levels over a period of 21 days and a literature study that examined whether there were other studies describing light preferences of various benthic freshwater diatoms. BNEO showed growth at most light levels and had highest growth at 20-40  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , which corresponds to a natural light at approximately 2-3 meters depth. There were difficulties with comparing BNEO and EINC, as EINC did not show any growth.

**Keywords:** Diatom, Bacillariophyceae, light, optimum, physiology.

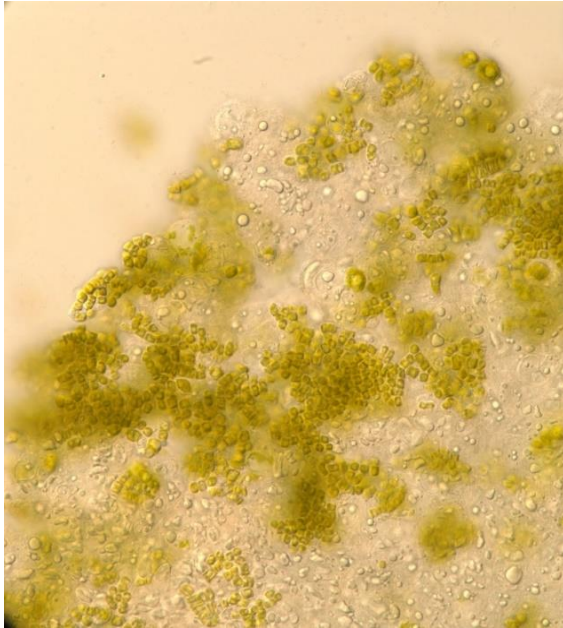
## **Innehållsförteckning**

Sammanfattning .....	4
Abstract .....	5
Inledning.....	7
Syfte .....	8
Hypotes.....	9
Metod .....	10
Genomförande försök .....	10
Hantering av resultat.....	11
Resultat.....	13
Diskussion .....	18
Felkällor.....	20
Källhänvisning .....	22
Källkritik.....	22
Appendix .....	23

## Inledning

Kiselalger är goda miljöindikatorer. Detta beror på att de är relativt lätta att hitta och ta prov på. De har även hög populationsdynamik, vilket gör att de snabbt indikerar miljöförändringar samt att de har väldokumenterade specifika miljökrav (Sveriges lantbruksuniversitet 2019). I Sverige används bland annat IPS (Indice de Polluo-sensibilité Spécifique, Cemagref 1982) index för att klassificera vattenkvalitet med hjälp av kiselalger. Enligt EU:s vattendirektiv (Direktiv 2000/60/EG) måste varje medlemsstat klassificera vattenförekomsternas vattenkvalitet, från hög till låg status. IPS index visar eventuell påverkan av näringsämnen och organiska föroreningar med hjälp av kiselalger, indexet baserar sig på att det finns alger med låg och hög känslighet mot näringsämnen och organiska föroreningar. IPS grundar sig på att kiselalgernas relativa abundans, alltså deras förekomst i förhållande till andra arter på samma plats, samt deras känslighet (Kahlert, Andrén & Jarlman 2007). Trots att IPS är väl använt och beprövat som vattenkvalitetsindex i hela Europa (Kelly 2009), så finns det mycket som ej ännu är känt angående indexet, till exempel om det faller olika ut vid olika ljusintensiteter. Överhuvudtaget så finns det mycket nytt att lära om ljuseffekter på bentiska alger (bottenlevande alger). Lite kunskap finns om minimala ljuskrav hos olika algar, inklusive kiselalger, in situ (Hill 1996). Även i Sverige finns det få undersökningar om kiselalger och dess anpassning till ljus, dock finns det en studie var både kiselalger och ljus är med i beräkningen, (Kahlert, Gottschalk 2014). De undersökte sammansättningen av kiselalger i 179 vattendrag och 98 sjöar runtom i Sverige. Vid undersökningen var det viktigt att alla kemiska parametrar (pH, näring osv.), var så lika som möjligt, när sjöar och vattendrag jämfördes. Vid undersökningen fann man att *Eunotia* släktet, där *Eunotia incisa* (EINC) är en av de vanligaste arterna Kahlert (2011), förekom i signifikant högre grad i vattendrag än i sjöar (Kahlert & Gottschalk 2014). Lika så fann man *Brachysira neoexilis* (BNEO) i signifikant högre grad i sjöar än i vattendrag. Det som skiljde de båda habitaterna åt var ljusnivån: Vattendrag hade högre humushalter än sjöar, och därför troligtvis lägre ljusintensitet vid samma djup. Därför spekulerade Kahlert & Gottschalk (2014) kring om *Eunotia* släktet, och därmed EINC, är bättre anpassade till att leva under lägre ljusintensiteter än *Brachysira* släktet, BNEO. Därför har dessa algarters anpassning till ljus valts att undersökas. De båda utvalda arterna, är bland det tio vanligaste algarterna i Sverige (Kahlert 2011), och är därför ett representativt prov för de arter som förekommer i vattendrag respektive sjöar i Sverige. Båda har klassats lika när det gäller IPS index och har hög känslighet för föroreningar (Sveriges lantbruksuniversitet 2018). Trots lika IPS fanns det

alltså andra egenskaper som gjorde att de ej förekom i lika stor utsträckning i de olika habitaterna, en möjlig skillnad är deras olika anpassning till ljus. Förutom klassningen genom känslighet för näring och organiska föroreningar som bland annat används i svenskt IPS så finns det andra sätt att klassificera kiselalger. Bouchez, Rimet (2012a), har samlat data och på så vis byggt upp en databas över kiselalgernas karaktärer, cellstorlek, levnadssätt osv. Enligt Bouchez, Rimet (2012b) är EINC större än BNEO, i biomassa, cellstorlek och längd (fig. 1 - 2).



**Figur 1.** Bild av EINC, en 5  $\mu\text{m}$  bred, 34  $\mu\text{m}$  lång och 5  $\mu\text{m}$  tjock alg.



**Figur 2.** Bild av BNEO, en 4  $\mu\text{m}$  bred, 23  $\mu\text{m}$  lång och 2,5  $\mu\text{m}$  tjock alg.

## Syfte

Syftet med denna studie är att undersöka BNEO och EINC:s ljuspreferenser, alltså vid vilka ljusintervall de har högst tillväxt. Eftersom de båda arterna klassificeras som känsliga för föroreningar skulle de kunna användas som indikatorer för ljus på de platser, där de har högst tillväxt. Fortsättningsvis skulle man kunna kartlägga anpassning till ljus hos andra arter av kiselalger, så finns det potential att finna fler lämpliga ljusindikatorarter. I samband med vattenkvalitetsundersökningar så skulle kunskapen om hur ljus påverkar kiselalgernas tillväxt, minska den osäkerhet som finns kring hur andra påverkansfaktorer, förutom näring och organiska ämnen faktiskt kan påverka IPS. Studien innefattar ett experiment var tillväxten av algerna BNEO och EINC mättes vid olika ljusnivåer under en tidsperiod av 21 dagar samt en litteraturstudie vilken undersökte om det fanns andra studier som beskriver ljuspreferenser av olika fastsittande sötvattenskiselalger.



### **Hypotes**

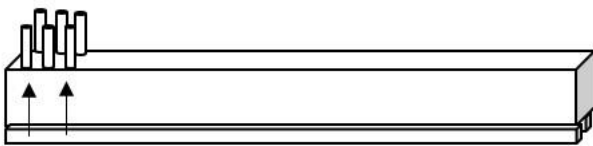
EINC kommer ha högre tillväxt i de lägre ljusnivåer än BNEO, eftersom EINC förekom till högre utsträckning i vattendrag än i sjöar.

## Metod

Studien bestod av ett laborativt försök samt en mindre litteraturstudie.

### Genomförande försök

De två algarterna *Brachysira neoexilis* (BNEO) samt *Eunotia incisa* (EINC) (fig. 1–2), förkultiverades i WC medium i tre veckor, efter att ha växt mycket långsamt i kylrum, i några år efter det att de isolerades från enstaka celler, 2015. WC medium är en vanlig näringslösning vid odling av kiselalger (Mann, Chepurinov 2004). Förkultiveringen behövdes för att få många celler av samma art.



**Figur 3.** Modell över ljusplatta, provrören bestrålades underifrån.

För att kunna utföra försöket förberedes en platta, var sex ljusnivåer förberedes (5, 10, 20, 40, 50 och 80  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fig. 3). Plattan bestrålades underifrån av två lysrör, vilka uppmätte 575  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . För att temperaturen skulle vara lika över hela plattan, kontrollerades den med hjälp av termometer och var under försökets gång ca 24 grader Celsius. De sex valda ljusnivåerna baserades på algernas naturliga ljusförhållanden och målet var att ha stor spridning mellan nivåerna, så skillnader kunde upptäckas (Kahlert 2001, samt mätning med Biospherical instruments inc). För att ställa in rätt ljusnivå täckes vitt papper för, på undersidan av ljusplattan, samt så släpptes ljus in genom att skrapa bort, avlägsna papper, rätt ljusnivå mättes genom att kontinuerligt mäta med en ljusmätare (Biospherical instruments inc). Försöket bestod av algerna BNEO och EINC, men även en mix, vilken var en blandning av de båda algerna. I det utfallet att BNEO och EINC skulle tillväxa vid samma ljusnivåer, kunde då eventuell konkurrens observeras. För att resultaten mellan algerna skulle kunna jämföras krävdes det att det var lika stor mängd celler i de olika rören. På grund av tidsbrist kunde ej cellerna räknas och därför jämfördes istället biomassa. Biomassan mättes med hjälp av en fluorometer (Fluorometer TD-700), vilken bestrålade algerna med ljus varpå den returnerade fluorescensen mättes. Fluorescensen för de båda algerna jämfördes och koncentrationen av BNEO och EINC reglerades till dess att båda proverna fick samma utslag i fluorometern. När rätt mängd alger och WC medium kalkylerats förbereddes resterande prov enligt tabell (Appendix, tab. 1), och tillfördes till autoklaverade provrör, i glas, vilka

kompletterades med plastlock för att förhindra kontaminering. För att minska felkällor förberedes tre replikat av vart prov för varje ljusnivå, totalt förberedes 55 prov varav ett var en blank, vilket endast innehöll WC medium. Dessa spreds sedan slumpvis ut på ljusplattan (fig. 3) och angavs ett nummer. Algerna blev stressade över förflyttningen från förkulturen till provrören och resultaten noterades först efter 1 vecka, när algerna stabiliserat sig. Därefter mättes proven dagligen i ytterligare 16 dagar. Med hjälp av en fluorometer (Fluorometer TD-700) mättes fluorescensen av klorofyll a. Fluorescensen av klorofyll a är en av få mätmetoder var man kan mäta alger utan att förstöra provet. Fluorescensen av pigmentet mäts genom att absorberat ljus re-emitteras med hjälp av lång våglängd och fluorescence kan observeras. Annan motivering till varför just fluorescensen av klorofyll a mättes var att det är fördelaktigt vid mätning av levande prov (in vivo), vilket var fallet för detta försök (Andersen 2005). För mätningen i själva experimentet visade sig Fluorometer TD-700 vara för okänslig för de låga alghalterna, därför användes även en annan fluorometer: Fluorescence Monitoring System Hansatech. En fluorometer kan mäta flera olika fluorescensparametrar, dock var fluorescence maximum (Fm'), den enda parametern som hade tillräckligt höga mätvärden för att kunna utvärderas vid studiens slut. Fluorescence maximum (Fm') mäts genom att en mycket hög ljuspuls lyser genom det ljusadapterade provet (prov som utsatts för naturlig bestrålning), vilket resulterar i att alla reaktionscenter av fotosyntessystem II stängs ner. Fm' ger en ungefärlig bild av hur många reaktionscenter det finns, i det här fallet i "algmassan", det vill säga ett grovt mått på biomassan i det undersökta provröret. Desto högre Fm' värde desto högre biomassa finns i provet. Den aktuella fluorometern mätte Fm' i enheten Bits (Hansatech instruments). Varpå Fm' kunde användas för att jämföra hur biomassa förändrades under experimentets gång.

### **Hantering av resultat**

Det relevanta för experimentet var algernas eventuella tillväxt, förändringen av Fm'/dag. Först kontrollerades det att proven uppfyllde kraven för linjär regression; oberoende observationerna, normalfördelade residualer, samt konstant varians hos residualerna. Detta kontrollerades genom att residualerna för samtliga rör kalkylerades och residualdiagram granskades. Kraven för linjär regression uppfylldes varpå tillväxten (Fm'/dag), för samtliga rör sammanställdes för de tre proverna (BNEO, EINC och MIX), i diagrammen plottades tillväxten över ljusnivåerna, se grafer nedan (fig. 4–6). För att testa studiens hypotes jämfördes BNEO och EINC vid samtliga ljusnivåer, med hjälp av ett Welch Two Sample t-test (ett icke parat t-test). Samt så undersöktes proven i

mikroskop (fig. 7–10), för att ytterligare undersöka algernas tillväxt och välmående. Då endast BNEO hade växt under tillväxtperioden (fig.4), så valdes det att genomföras ett parat t. test mellan BNEOs ljusnivåer (tabell. 1), för att göra detta kontrollerades eventuell normalfördelning (Appendix, tab.2). För att undersöka skillnaden mellan BNEOs tillväxt och det mixade provet så utfördes ett icke-parat t. test vid ljusnivå 20 och 50  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . För att hantera data har Excel samt R studio använts.

### **Datainsamling**

För att studera och hitta bakgrundsinformation samt för att hitta liknande artiklar inom ämnet, har det med hjälp av handledare formulerats följande sökord; diatom, light, experiment, labor, optimum, physiology, irradiance. Litteraturen har bestått av vetenskapliga rapporter, tidskrifter, databaser samt facklitteratur. Då det fanns svårighet att hitta relevanta artiklar, för jämförelse med denna studie, så har det i samråd med handledaren valts att fokusera på två utvalda och relevanta, vilka undersökte ljuspreferenser av enstaka arter.

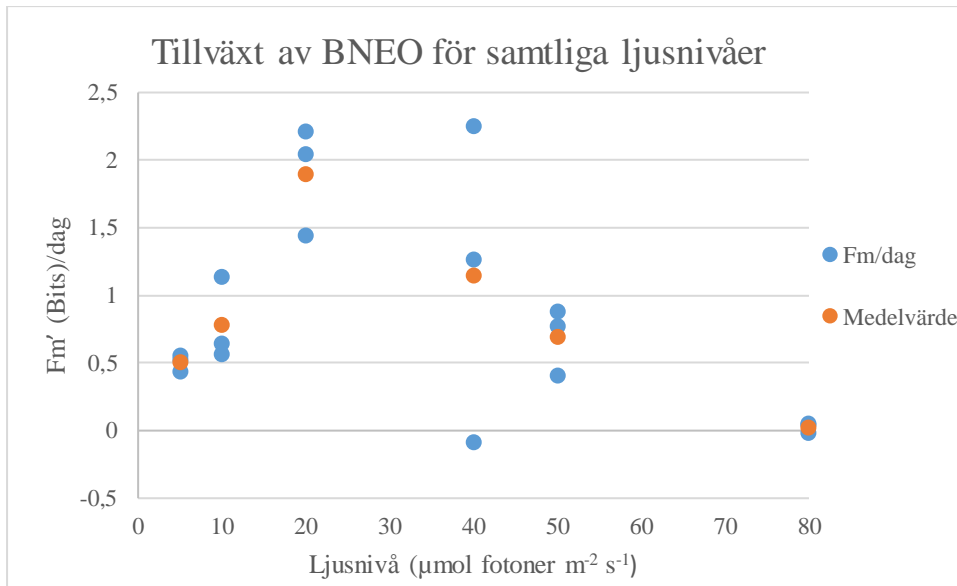
## Resultat

BNEO har haft god tillväxt under försöksperioden, högst tillväxt hade BNEO vid ljusnivåerna 20 och 40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (fig. 4). På bilden från mikroskopet syns många celler fyllda med cellinnehåll (grön gul massa), vilket indikerar att BNEO lever (fig. 7).

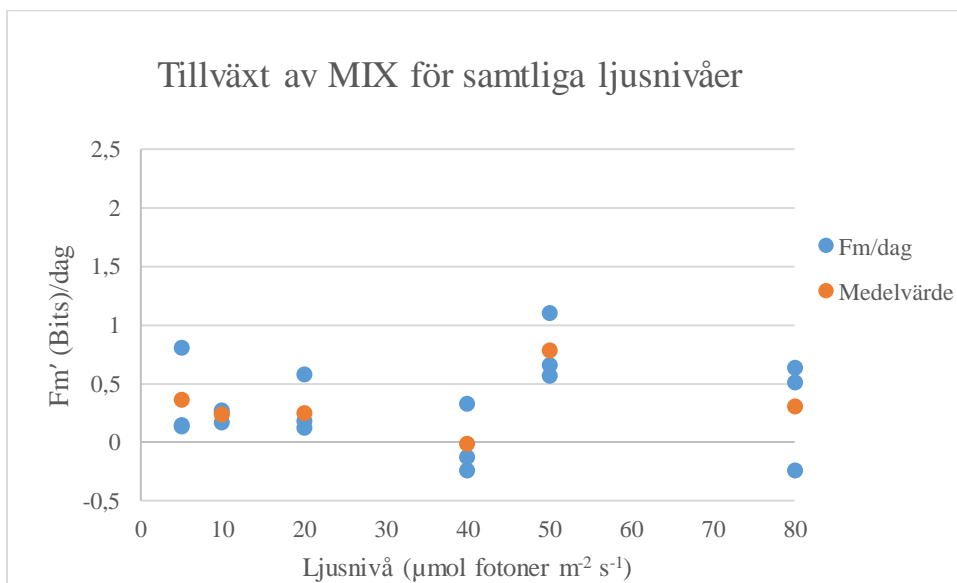
BNEO visar signifikant större tillväxt än EINC vid ljusnivå; 10 ( $p=0,04064$ ), 20 ( $p=0,01503$ ) och 50 ( $p=0,03994$ ) (tab.1, fig. 4, 6). Jämförelsen av BNEO mellan olika ljusnivåer visade att 20 hade signifikant större tillväxt än 5 ( $p=0,03378$ ) och 80 ( $p=0,01591$ ) samt att 5 hade signifikant större tillväxt än 80 ( $p=0,00960$ ).

Det mixade provet hade högst tillväxt vid 50  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (fig. 5). Vid jämförelse av det mixade provet och BNEO syntes att BNEO hade signifikant större tillväxt än MIX vid ljusnivå 20 ( $p=0,00729$ ). När det mixade provet undersöktes i mikroskop fanns levande celler av både EINC och BNEO (fig. 8–9).

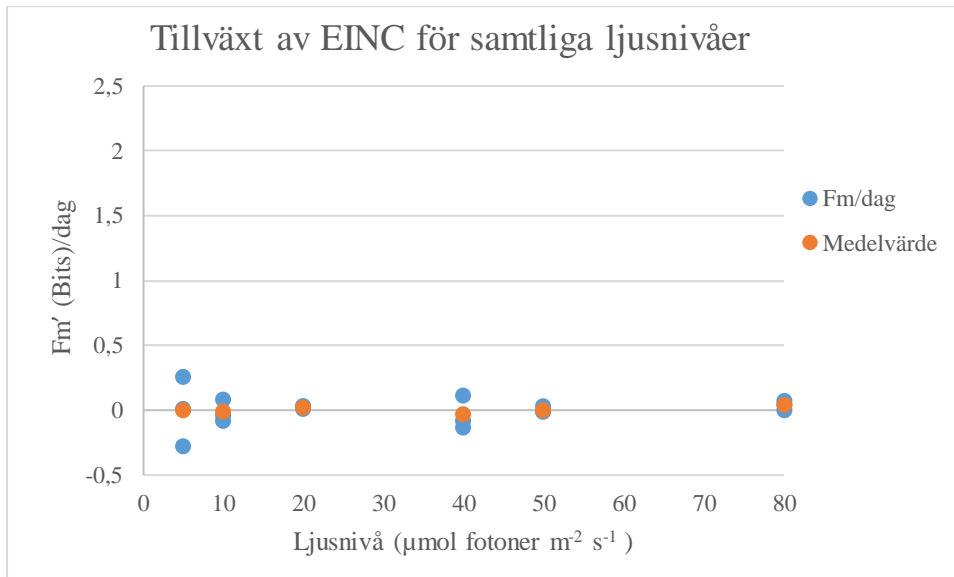
Ingen tillväxt har skett av EINC vid någon av ljusnivåerna och medelvärdena höll sig kring 0 (fig. 6). I mikroskop kunde även tydas att provet med EINC till stor del bestod av skal, dock fanns några levande alger kvar, på bilden syns även en gel, vilket troligen är Extracellular Polymeric Substances (EPS). EPS är en gel, vilken kiselalger producerar. EPS hjälper alger att till exempel ta upp näringsämnen och kommunicera mellan cellerna, den kan även användas av alger som skydd. EPS används bland annat som indikator för miljöförändringar så som vattenförorening (Xiao, Zhen 2016, fig.10). Därför är det möjligt att en tjock EPS hinna indikerar att EINC befinner sig i vila.



**Figur 4.** Tillväxt av BNEO för samtliga ljusnivåer. BNEO har haft tillväxt vid samtliga ljusnivåer med undantag ljusnivå 80  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



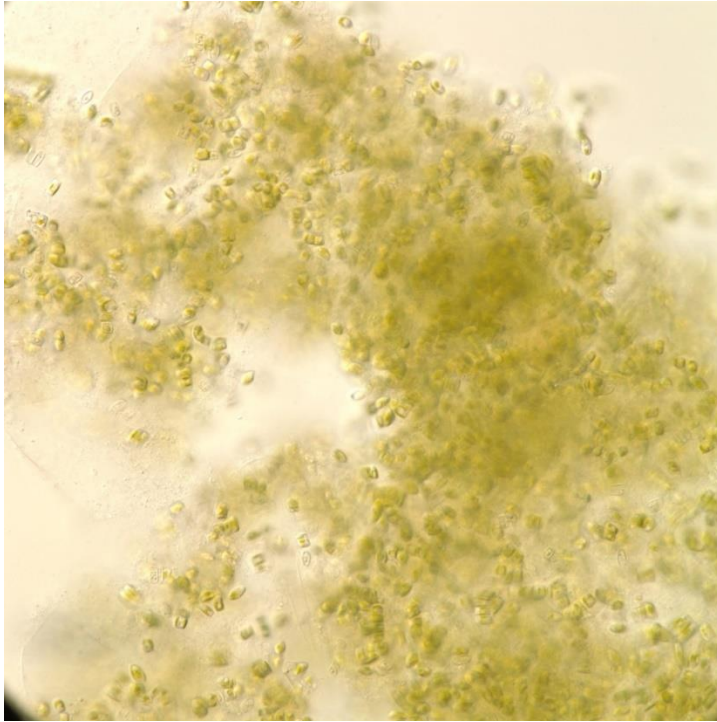
**Figur 5.** Tillväxten av MIX för samtliga ljusnivåer. Generellt hade MIX en låg tillväxt. Högst var den vid 50  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



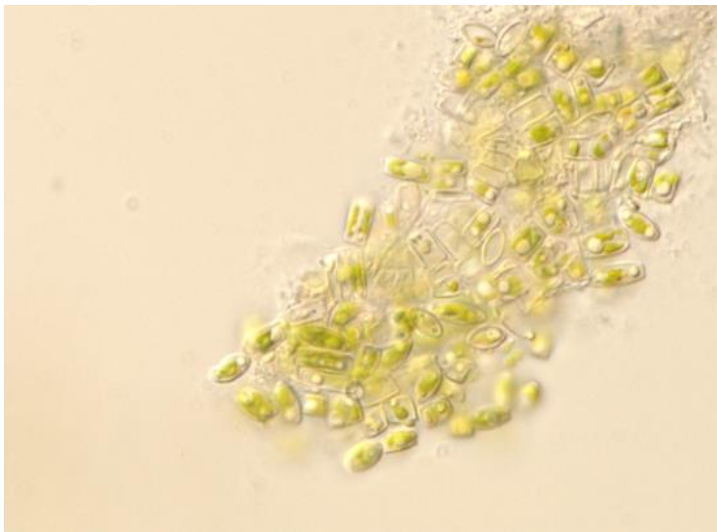
**Figur 6.** Tillväxt av EINC för samtliga ljusnivåer. Ingen eller väldigt liten tillväxt av EINC har skett.

**Tabell 1.** Tabell över resultat från utförda t test. Tabellen visar sannolikhetsvärdet (p. värdet) för samtliga test, dess signifikans ( $p < 0,05$ ), samt t. värdet, ett positivt värde indikerar att provet till vänster hade störst tillväxt och ett negativt att provet till höger hade störst tillväxt. Resterande resultat finns att läsa i appendix, tabell 3.

Ljusnivå	Prov	p. värde	Signifikant ( $p < 0,05$ )	t. värde
5	BNEO v.s. EINC	0,074	Nej	+
10	BNEO v.s. EINC	0,041	Ja	+
20	BNEO v.s. EINC	0,015	Ja	+
40	BNEO v.s. EINC	0,223	Nej	+
50	BNEO v.s. EINC	0,040	Ja	+
80	BNEO v.s. EINC	0,614	Nej	+
5 v.s. 20	BNEO	0,034	Ja	-
80 v.s. 20	BNEO	0,016	Ja	-
5 v.s. 40	BNEO	0,459	Nej	+
80 v.s. 40	BNEO	0,230	Nej	-
5 v.s. 80	BNEO	0,010	Ja	+
20 v.s. 40	BNEO	0,386	Nej	+
20	BNEO v.s. MIX	0,007	Ja	+
50	BNEO v.s. MIX	0,711	Nej	+

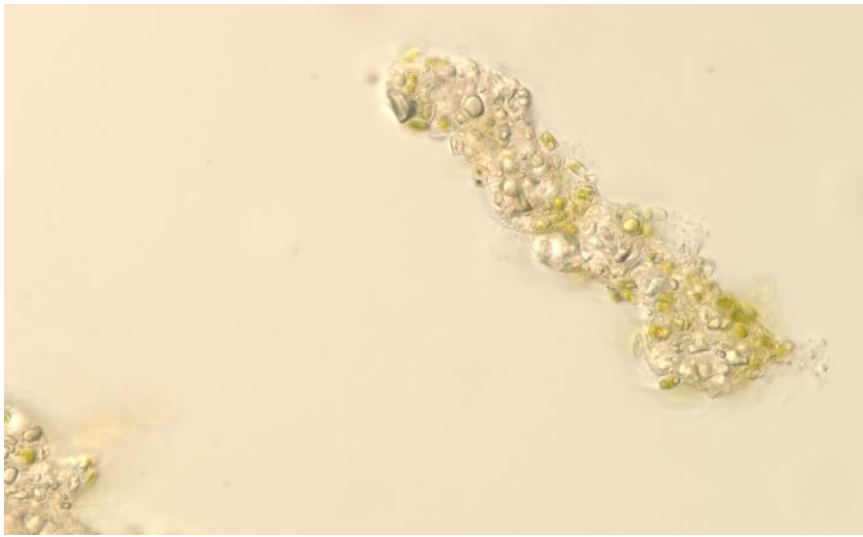


**Figur 7.** Bild av BNEO vid ljusnivå  $50 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , många celler med grönt cellinnehåll syns vilken indikerar att de är levande.

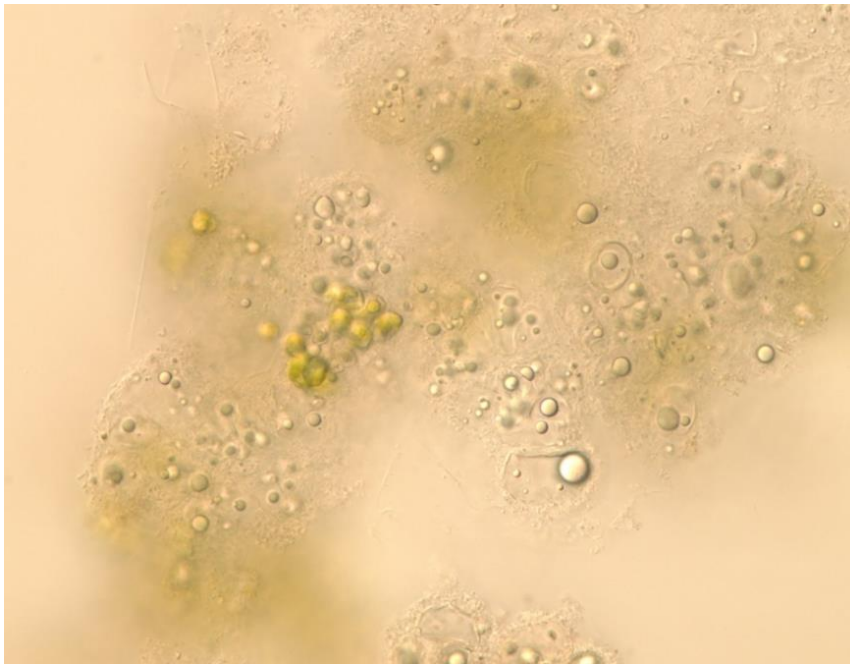


**Figur 8.** Bild av det mixade provet odlat vid  $50 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , bilden visar att levande celler av både BNEO och EINC.





**Figur 9.** Bild av mix prov, odlade vid ljusnivå  $50 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , bilden visar även EPS, vilket indikerar att algerna ej trivs.



**Figur 10.** Bild av EINC odlade vid ljusnivå  $50 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ej så grön bild dock syns viss tillväxt.

## Diskussion

Studiens hypotes kan förkastas. EINC har ej växt bättre än BNEO i lägre ljus (fig.4, 6). Dock visade ej EINC någon tillväxt under försöket, varpå det kan diskuteras om hypotesen ens kunde testas. Hypotesen kan därför ej slutligen avgöras.

BNEO visade däremot tillväxt vid flertalet ljusnivåer och hade högst tillväxt vid 20–40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Ljus i närliggande sjö kontrollerades med hjälp av en ljusmätare (Biospherical instruments inc), och ljuset vid ytan mättes då till 153  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Då ljus förändras över dygnet samt vid olika väder så har mätningen viss felkälla. För att beräkna vilket ljus 20–40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  motsvarar, så antogs det att ljus avtar exponentiellt nedåt i sjön, samt att det avtog på liknande sätt som i sjön Erken, var ljuset avtog 0,52  $\text{m}^{-1}$  (Kahlert 2001). Erken ansågs som en relevant referenssjö då den är belägen drygt 7 mil från uppmätt och antogs därför ha liknande klimat. I Erken uppmättes ytans ljusnivå till 272  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , och 20–40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  motsvarade ett djup på ca 3–4 meter (Kahlert 2001). I den närliggande sjön motsvarar ett ljus på 20–40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ca 2–3 meter, om man applicerar samma modell. Varpå slutsatsen drogs att BNEO troligen återfinns vid ca 2–3 meters djup.

Det fanns svårigheter med att jämföra BNEO och EINC, då EINC inte visade någon tillväxt och medelvärdena höll sig kring noll (fig. 6). Tillväxt mäter en förändring, hur mycket en population ökat eller minskat, vilket innebär att trots att EINC höll sig kring noll så innebär det ej att alla celler dött. När EINC studerades i mikroskop syntes både skal och levande alger. Trots detta kan fastställas att stor del av EINC proven var döda och tillväxten hade generellt gått väldigt dåligt i samtliga prov (fig.10). I proven syntes även EPS, vilket indikerar att algerna ej trivdes. EPS kan bero på flera faktorer, Xiao, Zhen (2016) menar att det bland annat kan handla om förändring i miljön alternativt brist på kväve eller fosfor. Enligt Xiao, Zhen (2016) producerar kiselalger mest EPS under slutet av sin tillväxtperiod. Detta skulle indikera att EINC ej kunde tillväxa mer än den gjorde, alltså att miljön ej var god nog att tillväxa i.

I provet var de båda algerna samodlats, MIX så syntes en svag tillväxt, högst var den vid 50  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (fig. 5). När det mixade provet granskades i mikroskop fann man både EINC och BNEO. Det verkade även som EINC i det mixade provet trivdes bättre än i det enskilda, då fler celler med grön massa syntes (fig. 8-9). Eftersom endast BNEO visat tillväxt i det enskilda provet så vore det logiskt om det mixade provets tillväxt var hälften så stor som BNEOs, då hälften så mycket biomassa tillförts i dessa

prov (Appendix, tab.1, fig. 4, 5), dock visade grafen för de mixade provet något intressant, ingen av ljusnivåerna visade exakt hälften av BNEOs tillväxt vid samma ljusnivå (fig.4, 5). Vid ljusnivå 5, 50 och 80 visade det mixade provet större tillväxt än BNEO och vid 10 och 20 hade det mixade provet mindre än hälften så stor tillväxt. På grund av detta utfördes ett icke para t. test mellan BNEO och MIX (tab.1), vilket visade att BNEO hade signifikant större tillväxt än MIX vid ljusnivå 20 och större, men ej med signifikans vid ljusnivå 50. Det kan diskuteras vad denna tillväxt kan bero på. Kanske är det så att EINC av någon anledning trivdes bättre i det mixade provet än i det enskilda. Kanske hade BNEO det bättre och fick större tillväxt i det mixade provet än i sitt enskilda. I mikroskopet syntes som sagt både BNEO och EINC när det mixade provet granskades, på bilden ser man även EPS, vilken även det indikerar dåliga tillväxtförhållanden (fig. 8–9, Xiao, Zhen 2016). Viktigt att ha i åtanke är den felmarginal som finns vid jämförelse av medelvärden, av samtliga prov har det som tidigare nämnts gjorts tre replikat, av vilka ett medelvärde beräknats. Detta innebär att det finns risk för spridning mellan de tre replikaten. För att skatta medelvärdenas felkälla har standardavvikelsen för de tre replikaten, i var punkt, beräknats (Appendix, tab.4).

### **Jämförelse med liknande studier**

Campell, Li & Talmy (2017) undersökte två havslevande kiselalgerna *Thalassiosira pseudonana* och *Thalassiosira punctigera*. De båda arternas tillväxt vid olika ljus studeras genom att utsätta dem för perioder med olika ljusintensiteter. Studie liknar ovanstående, båda utgår från kiselalger och ljus, dock utförs denna på marina arter och denna studie på limniska. *Thalassiosira pseudonana* hade högst tillväxt vid  $150 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$  och *Thalassiosira punctigera* visade en ökning i tillväxt med minskade ljusperioder, men med högre ljusintensitet,  $>150 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Campell, Li & Talmy (2017) menar att de större cellerna har tillväxt vid starkare ljus, vid mindre tillfällen och de mindre krävde ljus under längre perioder. *Thalassiosira pseudonana* är enligt studie mindre än *Thalassiosira punctigera*, på liknande vis som i studien ovan var EINC är större än BNEO. BNEO hade hög tillväxt vid de lägre ljusnivåerna, alltså likt Campell, Li & Talmy (2017), hade den mindre algen högre tillväxt vid lägre ljusnivå.

Dubinsky, Falkowski & Wyman (1985) studerar tre marina arter av fytoplankton, varav en kiselalg, *Thalassiosira weissflogii*. Dubinsky, Falkowski & Wyman (1985) undersöker de tre arternas fotosyntes och bestrålning genom att kontrollera syrenivåer samt genom att granska klorofyll a. Enligt Dubinsky, Falkowski & Wyman (1985) så växte *Thalassiosira weissflogii* bäst vid  $600 \mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , alltså vid mycket högre ljusnivå än vad BNEO tillväxte. *Thalassiosira weissflogii* är enligt Bouchez, Rimet (2012b) något större

än BNEO, vilket potentiellt är en orsak till den höga ljusnivån.

### **Felkällor**

EINC visade ingen tillväxt under försöket, varpå eventuella felkällor kan diskuteras. Då cellerna ej räknades, utan beräknades med hjälp av att kalkylera biomassa, så går det inte att säga om det var 100% lika många celler i de olika proven och på så vis kan ett av proven haft fördelaktigt fler celler än den andra osv. Eftersom celler ej räknades kan man ej heller tyda hur många celler som överlevt eller tillväxt under försökets gång. Det skulle kunna vara så att viss mängd av de skal (döda celler) som syns dog redan vid förflyttning av proverna eller var döda redan i förkulturen. Skulle detta försök göras om skulle det bland annat vara fördelaktigt att förlänga inkubationstiden, hade de fått växa längre tid så hade det kanske upptäckts att EINCs prov, ej var lämpat redan från början, och felkällan hade kunnat uteslutas. På grund av visst stresspåslag hos algerna vid förflyttning, hade det även varit bra att förlängt mätperioden, då den första veckan ej gav tolkningsbara resultat. De parametrar som valts att undersökas hade kunnat förbättrats, likt Dubinsky, Falkowski & Wyman (1985), hade man kunnat närmare undersöka algernas fysiologi, varpå man kanske hade funnit fler faktorer som hade förklarat varför algerna främst tillväxer, vid de ljusnivåerna de gör. I försöket bestrålades proverna av ljus underifrån, för att bättre efterlikna naturliga förhållande hade man kunnat ändra modellen (fig. 3) och istället bestråla proverna ovanifrån. EINC hade som tidigare nämnt dålig tillväxt (fig. 6), detta skulle kunna beror på WC mediet, vilket är mycket näringsrikt (Mann, Chepurnov 2004). Det hade varit fördelaktigt att testa olika medium, dock är WC medium bland de vanligaste, vid odling av kiselalger Mann, Chepurnov (2004), så det är motiverat varför det användes under försöket.

### **Studiens bidrag i ämnet**

Det finns mycket skrivet om kiselalger, men rapporter om kiselalger som lever i sötvatten är en bristvara, särskilt när det kommer till deras anpassning till ljus (Hill 1996). Därför är denna studien viktig, den är en början på ett ökat intresse för kiselalgers anpassning till ljus. Den visar för första gången vid vilka ljusintervall den fastsittande sötvattens kiselalgarten BNEO har högst tillväxt. Den belyser även den potential det finns att studera hur ljus påverkar kiselalgernas tillväxt, vilken skulle kunna minska den osäkerhet som finns kring hur andra påverkansfaktorer, förutom näring och organiska ämnen faktiskt kan påverka IPS.

## **Slutsats**

Hypotesen har förkastats i studien, men kan ej slutligen avgöras, eftersom EINC faktiskt inte växte alls. Vad som studien har kommit fram till är att BNEOs ljuspreferenser är 20- 40  $\mu\text{mol fotoner m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

## Källhänvisning

- Andersen, A. R. (2005). *Algal culturing techniques*. San Diego: Academic Press, ss. 301-307.
- Bouchez, A., Rimet, F. (2012a) Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in European rivers. *Kmae journal*, vol. 406.
- Bouchez, A., Rimet, F. (2012b) Life-forms, cell-sizes and ecological guilds of diatoms in European rivers, appendix 1. *Kmae journal*, vol. 406.
- Campell, A.D., Li, G. & Talmy, D. (2017) Diatom growth responses to photoperiod and light are predictable from diel reductant generation. *Journal of Phycology*, vol 53, ss. 95-107.
- Hansatech instruments. *Fluorescence Monitoring System FMS2 User Manual*. England: Hansatech instruments Ltd.
- Hill, W. (1996). Effects of light. I: Bothwell, L.M., Rex, L.L. & Stevenson, R.J. (red.), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*. San Diego: Academic Press, ss.121-148.
- Huisman, J., Jonker, R.J., Zonneveld, C. & Wessing, F.J. (1999) Competition for light between phytoplankton species: experimental tests of mechanistic theory. *Ecology*, vol.80 (1), ss. 211-222.
- Kahlert, M. (2011). *Framtagande av gemensamt delprogram "Kiselalger i vattendrag": .....Underlag för utformning av övervakningsprogram och verifiering av kiselalgsindex. ....Karlskrona: Länsstyrelsen Blekinge län. Rapport 2011:6.*
- Kahlert, M. (2001). *Biomass and nutrient status of benthic algae in lakes*. Diss. Uppsala: Uppsala Universitet.
- Kahlert, M., André, C., & Jarlman, A. (2007). *Bakgrundsrapport för revideringen 2007 av bedömningsgrunder för Påväxt – kiselalger i vattendrag*. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet. (Rapport 2007:23)
- Kahlert, M., Gottschalk, S. (2014). Differences in benthic diatom assemblages between streams and lakes in Sweden and implications for ecological assessment.
- Kelly, M. et al. (2009). A comparison of national approaches to setting ecological status boundaries in phyto-benthos assessment for the European Water Framework Directive: results of an intercalibration exercise. *Hydrobiologia*, vol. 62, ss. 169–182.
- Sveriges lantbruksuniversitet. (2018) *Kiselalger i svenska sötvatten* Excel. Version. 3,0. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet. (databas)
- Mann, D.G., Chepur, V. A. (2004) What have the Romans ever done for us? The past and future contribution of culture studies to diatom systematics. *Nova Hedwigia*, vol.79, ss. 237–291.
- Sveriges lantbruksuniversitet (2019). *Påväxtalger som miljöindikator*. Tillgänglig: <https://www.slu.se/vatten-miljo/pavaxtanalys> [2019-04-01]
- Xiao, R., Y, Zhen. (2016). Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. *Biotechnology Advances*. vol.34, ss. 1225–1244.

## Källkritik

Litteraturen har bestått av vetenskapliga betrodda källor, hämtade från vetenskapliga tidskrifter och böcker. Den kritik som finns är att viss litteratur är något gammal, dock är detta svårt att förhindra då lite skrivits inom ämnet.

## Appendix

**Tabell 1.** tabell över provinnehåll.

PROV	BNEO (ml)	EINC (ml)	WC Medium (ml)
A	-	2,0	28
B	0,5	-	29,5
C	0,25	1,0	28,75

**Tabell 2.** Tabell över normalfördelning av BNEO.

w	p. värde
0,90194	0,06212

**Tabell 3.** Tabell över samtliga värden från t. test.

Ljusnivå	Prov	p. värde	t. värde	df	95% Konfidensintervall
5	BNEO v.s. EINC	0,074	3,2197	2,2	-0,112008 – 1,125675
10	BNEO v.s. EINC	0,041	4,2646	2,3	0,07618814 – 1,51007852
20	BNEO v.s. EINC	0,015	8,0447	2,0	0,8739075 – 2,8769591
40	BNEO v.s. EINC	0,223	1,7316	2,0	-1,683825 – 4,038758
50	BNEO v.s. EINC	0,040	4,7894	2,0	0,07687694 – 1,29272306
80	BNEO v.s. EINC	0,614	0,5469	3,9	-0,09873554 - 0,06646888
5 v.s. 20	BNEO	0,034	-5,3019	2,0	-2,5263536 - -0,2628464
80 v.s. 20	BNEO	0,016	-7,8324	2,0	-2,9087286 - -0,8460714
5 v.s. 40	BNEO	0,459	0,9102	2,0	-3,647186 – 2,373586
80 v.s. 40	BNEO	0,230	-1,7087	2,0	-3,938912 - 1,699712
5 v.s. 80	BNEO	0,010	10,132	2,0	0,2777686 – 0,6878314
20 v.s. 40	BNEO	0,386	1,1015	2,0	-2,202268 - 3,717868
20	BNEO v.s. MIX	0,007	5,9029	3,3	0,7885226 – 2,4378774
50	BNEO v.s. MIX	0,711	0,3981	3,9	-0,7017253 - 0,5271919

**Tabell 4.** Tabell över standardavvikelsen av samtliga prov.

<b>Prov</b>	<b>Ljusnivå</b>	<b>Standardavvikelse</b>
BNEO	5	0,06
BNEO	10	0,31
BNEO	20	0,40
BNEO	40	1,17
BNEO	50	0,25
BNEO	80	0,04
MIX	5	0,39
MIX	10	0,06
MIX	20	0,25
MIX	40	0,30
MIX	50	0,29
MIX	80	0,48
MIX	5	0,27
EINC	10	0,08
EINC	20	0,01
EINC	40	0,01
EINC	50	0,13
EINC	80	0,03