

# Funksjonell økologi hos pikoplankton

med fokus på bottom-up og top-down  
effekter

**Aina Alice Olsen**

Marine Coastal Development

Innlevert: februar 2017

Hovedveileder: Olav Vadstein, IBT

Medveileder: Øystein Leiknes, IBI

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Institutt for bioteknologi og matvitenskap





## Forord

Dagens varierende klima kan påvirke viktige prosesser og unike funksjonelle grupper i marine systemer og næringsnett. Vi har en del kunnskaper på området, men det er mye vi fremdeles ikke vet. Vi må kontinuerlig oppdatere våre kunnskaper i takt med klimaendringene. Denne masteroppgaven er finansiert av prosjektet 'Ocean Certain'. Prosjektet ble startet av NTNU, som også er prosjektets koordinator. Målet med 'Ocean Certain' er å skape mer sikkerhet rundt kunnskapen vi har om våre hav og påvirkninger av klimaendringene. Prosjektet har samarbeidspartnere i ulike europeiske land, samt i Chile og Australia. Jeg takker 'Ocean Certain' for finansieringen av denne masteroppgaven.

Jeg vil takke for at jeg fikk denne muligheten, og er takknemlig for alle opplevelser og erfaringer jeg sitter igjen med. Jeg ønsker å takke alle som var med under oppholdet i Chile, der alle bidro på sin måte. Feltarbeidet var til tider utfordrende, men vi klarte å fullføre forsøkene (med noen endringer) selv om humøret ikke bestandig var på topp. Takk til alle dere som sendte meg nødvendige data.

En spesiell takk til mine veiledere, Olav Vadstein og Øystein Leiknes, som under hele prosessen fra feltarbeid og fram til innlevering har hatt troa på meg og vært tålmodige. Takk for deres profesjonelle assistanse og gode tilbakemeldinger på mitt arbeid.

Takk til venner som har lånt bort en sofa eller en seng når jeg har trengt det, og takk for at dere har husket å fylle meg med latter og holdt meg oppe.

Trondheim, 23.02.2017

*Aina Alice Olsen*

Aina Alice Olsen

*'No water, no life, no blue, no green.'*

-Sylvia Earle-



## Sammendrag

Et mesokosme- og et mikrokosmeforsøk ble utført over 10 og 11 dager i Patagonia, Chile. To eksperimentelle variabler ble benyttet; tetthet av kopepoder med to nivåer (lav beiting, LB og høy beiting, HB) og tilsetning av glukose med fem nivåer (0, 0,5, 1, 2 og 3C). Samtlige tanker fikk en daglig tilsetning av organisk og uorganiske næringssalter (glukose, nitrat, fosfat og silikat). Kopepodene ble tilsatt halvparten av tankene i starten av forsøkene. Målet var å undersøke hvordan en økt tilsetning av glukose i kombinasjon med økt predasjon ville påvirke ulike funksjonelle grupper i et marint næringsnett. Disse to variablene kan skape et mikrobielt samfunn der autotrofe mikroalger og heterotrofe prokaryoter konkurrerer om næringssaltene, og som kan føre til en konkurranse mellom predatorerne som beiter på disse. Økt predasjonstrykk kan påvirke biomassen på bunnen av næringsnettet der det er forventet at veksten av mikroalgene øker og veksten av prokaryotene minker. De funksjonelle gruppene som ble fokusert på var pikocyanobakterier (PCY) og heterotrofe bakterier (BAK). Andre grupper representert var heterotrofe nanoflagellater (HNF), ciliater (CIL) og kopepoder (KOP).

For å analysere celletettheten ble det benyttet et flow cytometer (FCM), flowCAM og stereolupe. Den spesifikke veksthastigheten ( $\mu$ ) for PCY og BAK ble bestemt med bakgrunn i frekvensen av delende celler (FDC) og inkorporering av  $^3\text{H}$ -leucin. Tapshastigheten ( $t$ ) og spesifikk endringshastighet ( $r$ ) ble også beregnet. Kontrollforsøk forsikret riktig tid for prøvetaking og at riktige innstillinger ble brukt på FCM ved analysering.

En økt glukosetilsetning førte til raskere utarming av løst uorganisk nitrogen og fosfor (DIN og DIP), og konsentrasjonen av total klorofyll  $a$  og klorofyll  $a < 2 \mu\text{m}$  minket med økende glukosetilsetning for både LB og HB for begge forsøkene. Celletettheten i gruppene representert i studiet økte med økende tilsetning av glukose (med unntak av PCY i mesokosmeforsøket). En økt kopepodebiomasse førte til økt tetthet av BAK for begge forsøkene. Det førte også til en økning i tettheten av HNF og økt konsentrasjon av DIP og klorofyll  $a$  i mikrokosmeforsøket. Vekst- og tapsraten for BAK ble positivt påvirket av økt glukosetilsetning i mesokosmeforsøket I mikrokosmeforsøket ble vekst-, taps- og endringsraten hos BAK påvirket av kopepodebiomassen, men glukosetilsetningen ga ingen tydelig effekt på de nevnte ratene.

Nøkkelord; Patagonia, flow cytometer, pikocyanobakterier, heterotrofe bakterier, bottom-up, top-down, glukosegradient, predasjon, frekvensen av delende celler.



## Summary

A mesocosm and a microcosm experiment was conducted over 10 and 11 days in Patagonia, Chile. Two experimental variables were used; density of copepods in two levels (low grazing and high grazing) and an addition of glucose in five levels (0, 0.5, 1, 2, and 3C). There was a daily addition of organic and inorganic nutrients (glucose, nitrate, phosphate and silicate) to all tanks. The copepods were added into half of the tanks in the beginning of the experiments. The goal was to study how an increased addition of glucose combined with increased grazing pressure would influence different functional groups in a marine food web. These two variables can create a microbial community with a competition for nutrients between autotrophic microalgae and heterotrophic prokaryotes, and create a competition between the predators feeding on these groups. High predation can affect the biomass further down in the food web and it is expected that the growth of microalgae will increase and the growth of prokaryotes will decrease. The functional groups of interest were picocyanobacteria and heterotrophic bacteria. Other groups included were heterotrophic nanoflagellates, ciliates and copepods.

Cell density was analyzed using a flow cytometer (FCM), flowCAM and a stereo loupe. The specific growth rate ( $\mu$ ) for PCY and BAK was determined based on the frequency of dividing cells (FDC) and incorporated  $^3\text{H}$ -leucine. The loss rate ( $t$ ) and specific rate of change ( $r$ ) was also calculated. Control experiments ensured right sampling time and that the correct setup was used on FCM when analyzing cell densities.

Increased addition of glucose lead to a rapid depletion of dissolved inorganic nitrogen and phosphorous (DIN and DIP), and the concentration of total chlorophyll *a* and chlorophyll *a* < 2  $\mu\text{m}$  decreased with increasing addition of glucose in LB and HB for both experiments. The cell densities for the groups represented in this study increased with higher addition of glucose (except PCY in the mesocosm experiment). A high biomass of copepods lead to increased cell density of BAK for both experiments. It also leads to an increased cell density of HNF and increased concentration of DIP and chlorophyll *a* in the microcosm experiment. The specific growth rate and loss rate for BAK was positively influenced by increased addition of glucose in the mesocosm experiment. For the microcosm experiment the specific growth rate, loss rate and the rate of change for BAK was influenced by high biomass of copepods, but an increase in glucose did not show any clear effect on the rates named above.

Key Words; Patagonia, flow cytometer, pikocyanobacteria, heterotrophic bacteria, bottom-up, top-down, glucose gradient, predation, frequency of dividing cells.





# Innhold

Forord	i
Sammendrag	iii
Summary	v
1 Innledning	1
2 Teori	5
2.1 Analytisk metode; BD Accuri C6 <sup>®</sup> Flow Cytometer	8
3 Materiale og metoder	11
3.1 Studieområdet	11
3.2 Eksperimentelt design	11
3.2.1 Mesokosme	12
3.2.2 Mikrokosme	13
3.3 Analyse med flow cytometri	13
3.4 Prøvetaking og konservering av prøver	15
3.5 Veksthastighet for autotroft (PCY) og heterotroft (BAK) pikoplankton	16
3.6 Kjemiske analyser	17
3.7 Kontrollforsøk	18
3.8 Beregninger	19
3.9 Statistiske analyser	20
4 Resultater	21
4.1 Filtrering for kartlegging av partikler i ulike størrelser	21
4.2 Døgnvariasjoner for celledeling hos PCY	22
4.3 Mesokosmeforsøket	24
4.3.1 Løste næringssalter (DIN og DIP)	24
4.3.2 Klorofyll <i>a</i> (total chl <i>a</i> og chl <i>a</i> < 2 μm)	27
4.3.3 Pikoplankton	30
4.3.4 Predatorer	32
4.3.5 Spesifikk vekst ( $\mu$ )- tap ( <i>t</i> )- og endringshastighet ( <i>r</i> )	36
4.4 Mikrokosmeforsøket	44
4.4.1 Løste næringssalter (DIN og DIP)	44
4.4.2 Klorofyll <i>a</i> (total chl <i>a</i> og chl <i>a</i> < 2 μm)	47
4.4.3 Pikoplankton	50
4.4.4 Predatorer	52
4.4.5 Spesifikk vekst ( $\mu$ )- tap ( <i>t</i> )- og endringshastighet ( <i>r</i> )	56
5 Diskusjon	63
5.1 Kontrollforsøkene; filtrering- og døgnforsøk	64
5.2 Celletetthet og veksthastigheter	64
5.3 Vekstbegrensede faktorer; bottom-up kontroll	67
5.4 Predatorer og beiting; top-down kontroll	68
6 Konklusjon	71
Referanser	73
Vedlegg	I



## 1 Innledning

Tilførsel og utnyttelse av viktige ressurser, utvikling og nedbrytning av biomasse, og de mange ulike funksjonelle roller er noen av mange viktige nøkkelprosesser i det marine planktoniske næringsnett. Dette er prosesser vi generelt vet lite om, mye på bakgrunn av at metodene som trengs for å gjennomføre slike studier ikke eksisterer eller så er de ekstremt tidskrevende å utføre (Vadstein et al. 2012). Vi vet at det planktoniske marine mikrobielle næringsnett er komplekst med mange dynamiske prosesser og interaksjoner som er avhengige av hverandre, og at det er en sterk sammenheng mellom de ulike komponentene på ulike trofiske nivåer.

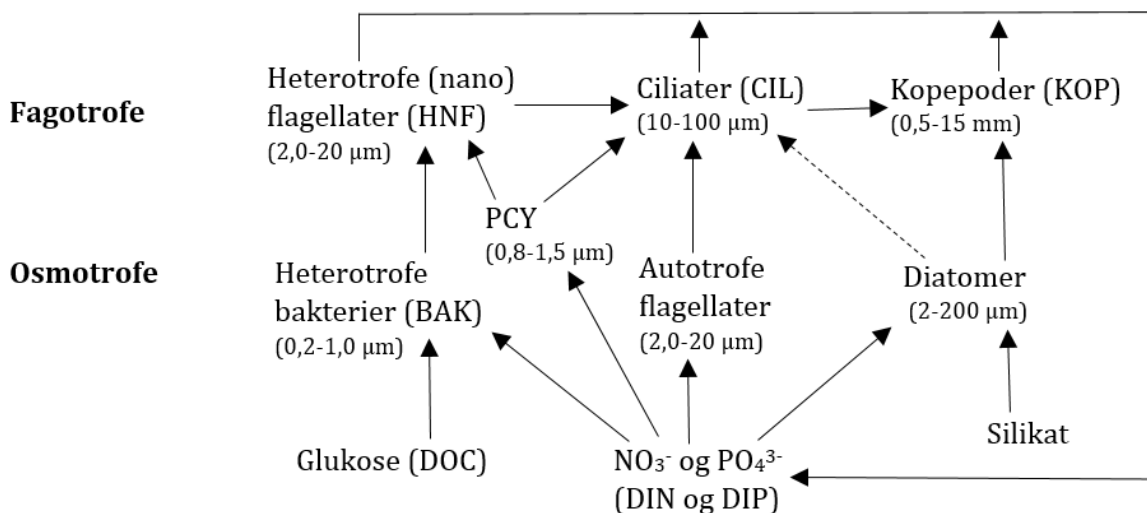
Osmotrofe organismer (autotrofe mikroalger og heterotrofe prokaryoter) sørger for at løste næringssalter kommer inn i det mikrobielle næringsnett. Størrelsesspekteret for de osmotrofe gruppene spenner seg omtrent tre størrelsesordener i lineær størrelse, som tilsvarer rundt ni størrelsesordener i volum (Larsen et al. 2015). Uansett om næringssaltene kommer inn i næringsnett gjennom autotrofe eller heterotrofe organismer, vil det få konsekvenser for både struktur og størrelse på næringsnett, samt for balansen mellom de autotrofe og heterotrofe prosessene (Larsen et al. 2015). Mye avhenger av konkurransen mellom disse to funksjonelle gruppene. Det er argumentert at når konsentrasjonen av næringssalter er permanent lavt vil de minste organismene (for eksempel heterotrofe bakterier) være overlegne konkurrenter, mye på grunn av deres høye overflate-til-volum ratio (eks. Aksnes & Cao 2011). Ifølge dette argumentet skulle en tro at tilsetning av lett nedbrytbart organisk materiale (som glukose) ville føre til at de heterotrofe bakteriene vinner konkurransen om mineralnæringssaltene.

Det er kjent at strukturen til fagotrofe organismer (predatorer) vil kunne påvirke de osmotrofe organismene i næringsnett, noe som er demonstrert eksperimentelt av for eksempel Stibor et al. (2004) og Vadstein et al. (2012). Pengerud et al. (1987) viste hvordan et selektivt beitepress på bakterier med en tilstedeværelse av en mindre konkurrent for fosfat ga et system dominert av fytoplankton og få bakterier, og der kapasiteten for konsumering av glukose var begrenset. Konkurransen mellom ulike grupper fytoplankton har fått stor oppmerksomhet, der blant annet organismenes krav, kapasitet for raskt opptak og rask vekst spiller viktige roller som avhenger av konsentrasjonen og variasjonen av begrensede næringssalter og mengden predatorer tilstede (eks. Harris 1980; Tilman et al. 1982; Sommer 1985).

I det marine pelagiske økosystem har det mikrobielle næringsnett mange ulike funksjonelle roller nettopp fordi det består av så mange ulike grupper. Planktoniske autotrofe og heterotrofe bakterier utgjør en signifikant andel av biomassen i marine systemer. De heterotrofe bakteriene konverterer løst organisk materiale (DOM) til organisk bundet karbon som blir tilgjengelig for bakterivore predatorer. De relativt enkle lineære næringskjedene fra næringssalter via fytoplankton til dyreplankton inkluderer mange viktige aspekter av det pelagiske økosystem. Men slike enkle lineære modeller utelukker aktiviteten og viktigheten av marine mikrober (Thingstad et al. 2007). Vår forståelse av rollene til autotrofe og heterotrofe bakterier henger sammen med vår forståelse av hvordan bakteriens veksthastighet, tetthet og diversitet blir kontrollert. Thingstad & Lignell (1997) presenterte forenklete antakelser om fem viktige interaksjoner mellom heterotrofe bakterier og dets biologiske og kjemiske omgivelser; 1) løst organisk karbon, 2) uorganisk fosfat, 3) organisk/uorganisk nitrogen, 4) predasjon av protozoer, og 5) viruslysis. De tre første interaksjonene vil føre til en begrenset veksthastighet, og de to siste til tap av celler. Thingstad et al. (1997) har vist hvordan bakterier begrenset av mineralnæringssalter blir 'skviset' mellom konkurransen for mineralnæringssalter på den ene siden og predasjon av protozoer på den andre siden.

Thingstad et al. (2007) fremstilte en minimumsmodell for mikrobielle næringsnett ved bruk av matematiske utregninger. Minimumsmodellen viser hvordan gjennomstrømningen av løste uorganiske næringssalter finner veien oppgjennom næringsnett via ulike grupper av osmotrofe organismer, og fram til ulike grupper av fagotrofe organismer (*Figur 1.1*). Modellen er her noe modifisert for å tilpasse mesokosme- og mikrokosmeforsøket som ble utført. De tre gruppene av predatorer er heterotrofe nanoflagellater (heretter kalt HNF), ciliater (heretter kalt CIL) og kopepoder (heretter kalt KOP). Predatorene vil utøve et selektivt predasjonstrykk på de osmotrofe gruppene som består av heterotrofe bakterier (heretter kalt BAK), pikocyanobakterier (heretter kalt PCY), autotrofe flagellater og diatomeer. I den opprinnelige modellen er autotrofe bakterier (og PCY) inkludert i gruppen autotrofe flagellater. I den modifiserte modellen er PCY tatt ut fra denne gruppen. Med bakgrunn i at PCY er større enn BAK og mindre enn noen typer autotrofe flagellater ble PCY plassert et sted mellom de nevnte gruppene (*Figur 1.1*). De osmotrofe gruppene vil konkurrere om tilgjengelige mineralnæringssalter, og de fagotrofe gruppene vil konkurrere om byttedyrene (Thingstad et al. 2007). I tillegg vil deler av gjennomstrømningen bli påvirket av løst organisk karbon (DOC) og silikat (Si), som kan føre til C- og Si-begrensninger som kan påvirke veksthastigheten hos henholdsvis bakteriene og diatomeene.

For dette studiet er det gruppen med marint pikofytoplankton som er av interesse, og som har en størrelse mellom 0,2 og 3  $\mu\text{m}$  i diameter (Sherr & Sherr 2008). De spiller en viktig rolle i planktoniske samfunn, der de bidrar til karbonproduksjon, biomasse og energioverføring (Stockner 1988). Pikofytoplanktonet inkluderer cyanobakterier av slekten *Synechococcus* og *Prochlorococcus*, ulike takson av eukaryoter og bakterioplankton som inkluderer *Bacteria* og *Archaea* (Waterbury et al. 1979; Chisholm et al. 1988; Moon-van der Stay et al. 2001; Giovannoni & Rappé 2000). Interaksjoner mellom autotroft og heterotroft pikoplankton har en sterk innvirkning på skjebnen til karbonet i åpne havsystem, og det er derfor viktig å karakterisere disse små fraksjonene av mikrobielt plankton ved ulike tilstander (Grob et al. 2004).

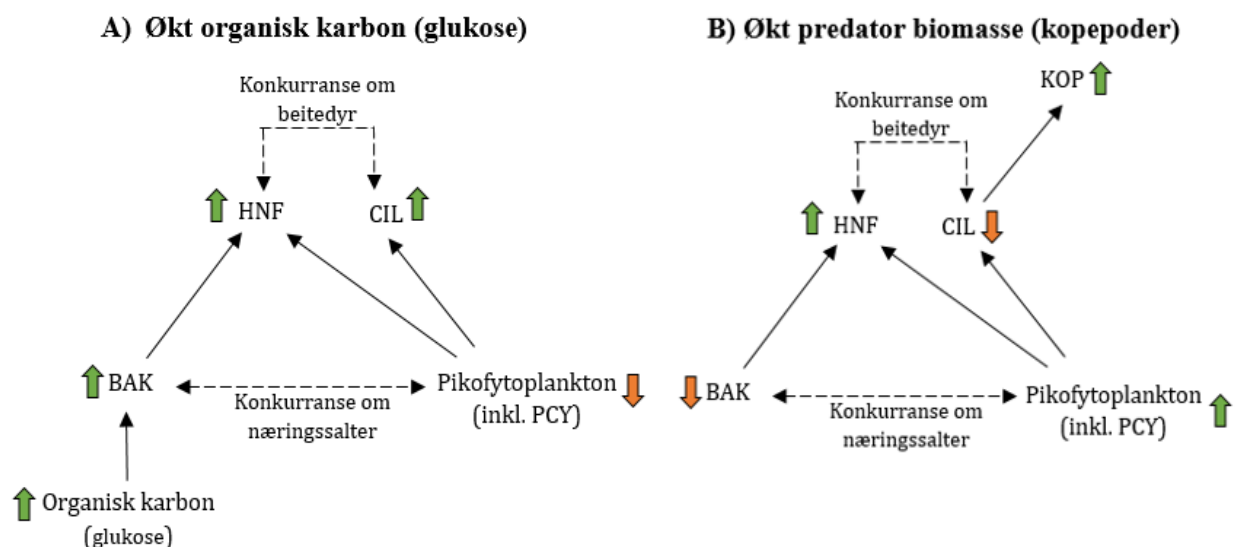


**Figur 1.1:** Gjennomstrømningsstruktur for mineralnæringsstoffer (løst uorganisk nitrogen, DIN, og løst uorganisk fosfor, DIP) gjennom en «minimumsmodell» for mikrobielle næringsnett, matematisk formulert av Thingstad et al. (2007). Modellen er noe modifisert for å tilpasse mesokosme- og mikrokosmeforsøket som ble utført. Modellen tar for seg fire alternative ruter for DIN og DIP; via heterotrofe bakterier (BAK), autotrofe flagellater, autotrofe bakterier (PCY) og/eller diatomeer. Stiplet linje representerer antagelsen om at ciliater beiter på små diatomeer.

## 1.1 Mål og forventninger

Målet med dette studiet var å undersøke hvordan et samfunn av pikoplankton kan endres dersom tilgjengeligheten til organisk karbon endres, og om dette er endringer som forplanter seg oppover i næringsnettet. Samtidig vil en ulik sammensetning av predatorer (kopepoder) ha innvirkninger nedover i næringsnettet. Disse to variablene sammen vil skape et mikrobielt samfunn der det blir en konkurranse om næringsstoffer mellom autotrofe mikroalger og heterotrofe prokaryoter, og det vil bli en konkurranse mellom predatorene som beiter på disse. Dette ble undersøkt i et større mesokosmeforsøk og et mindre mikrokosmeforsøk. Grupper av interesse var pikocyanobakterier (PCY) og heterotrofe bakterier (BAK). Andre grupper inkludert var heterotrofe nanoflagellater (HNF), ciliater (CIL) og kopepoder (KOP).

Forventninger for studiet var **A)** en tilsetning av organisk karbon (glukose) til systemet ville øke bakteriell produksjon, som igjen kunne føre til et system med økt tetthet av HNF og CIL, som igjen ville øke beitetrykket på PCY, og **B)** at et økt predasjonstrykk fra KOP ville resultere i en reduksjon av CIL, og føre til økt tetthet av HNF. Beitetrykket på PCY blir mindre og tettheten vil derfor øke, og beitetrykket på BAK blir høyt og tettheten minker (*Figur 1.2*).



**Figur 1.2:** En tilsetning av organisk karbon forventes å øke den bakterielle produksjonen (BAK), som kan føre til økt tetthet av predatorene (HNF og CIL). Det økende beitetrykket kombinert med en tøffere konkurranse for næringsstoffer mellom BAK og PCY forventes å redusere biomassen av sistnevnte. En tilsetning av kopepoder forventes å redusere tettheten av mikrodyreplankton, og spesielt CIL da KOP ikke beiter på HNF. Tettheten av HNF forventes derfor å øke, som kan føre til et høyt beitetrykk på BAK. PCY forventes å øke i tetthet, med mindre beitetrykket fra HNF er så stort at det gir en negativ påvirkning. Fargene på pilene indikerer forventet økt (grønn) eller forventet redusert (oransje) biomasse.

## 2 Teori

Teorien om næringskjeder predikerer at endringer på toppen av et næringsnett kan lage en kaskade nedover til lavere trofiske nivå og påvirke biomassen til primærprodusentene (for eksempel Oksanen et al. 1981). Endringer i bunnen av et næringsnett kan lage en motsatt kaskadereaksjon oppover til høyere nivå og påvirke biomassen til predatorer (Kaiser et al. 2012). Enten trofiske kaskader påvirker biomassen til hele trofiske nivå eller bare langs enkle næringskjeder innen et større næringsnett, avhenger stort av hvordan sammensetningen av primærprodusentene og predatorer er (Stibor et al. 2004). I diskusjonen rundt interaksjonene mellom ulike trofiske nivå i det mikrobielle næringsnettet, poengterte Azam et al. (1983) hvordan konverteringen av organisk materiale var linket til resirkuleringsprosesser av mineralnæringsalter, og innførte begrepet 'microbial loop'. Begrepet tar for seg hvordan karbonbehovet hos bakterier potensielt er kontrollert av interaksjoner mellom faktorer som fysiologi, predasjon, konkurranse om næringsalter og frigjørelse av DOM fra næringsnettet. De poengterte også det enorme mangfoldet av økologiske interaksjoner mellom de ulike gruppene, som blant annet kommensalisme, konkurranse og predasjon. Det er utført mange studier med bakterier, alger og deres predatorer, der tilgang til og resirkulering av mineralnæringsalter og konkurranse mellom ulike grupper ble studert (se Pengerud et al. 1987 for mer informasjon). Det er mange aspekter som kan forklares på bakgrunn av relativt enkle interaksjoner på økosystemnivå (for eksempel konkurranse og predasjon) og fysiologien på organismenivå (Pengerud et al. 1987). Slike studier har vært med å motbevise at bakterier er tallmessig ubetydelige, inaktive og ikke har noe stor rolle i prosessene med remineralisering av uorganiske stoffer (Azam 1983; Vadstein 2000; Sherr & Sherr 2008).

Grupperingen av de ulike artene i et marint næringsnett er en utfordring da én art kan tilhøre flere grupper på samme tid. For å forenkle den komplekse strukturen kan de ulike organismene med like økologiske roller plasseres i samme funksjonelle gruppe (Olsen et al. 2007). Konseptet ble først brukt i en økologisk tilnærming av Fauchald & Jumars (1979), og de ulike artene av fyttoplankton ble kategorisert blant annet på bakgrunn av funksjon, ulik distribusjon og deltakelse i viktige biogeokjemiske sykluser (Nair et al. 2008; Smayda & Reynolds 2003; Le Quéré et al. 2005; Hood et al. 2006). Fyttoplanktonet kan også kategoriseres basert på pigmenter (som klorofyll og fykobiliproteiner) og på bakgrunn av cellediameter i tre ulike klasser; piko (0,2-2  $\mu\text{m}$ ), nano (2-20  $\mu\text{m}$ ) og mikro (> 20  $\mu\text{m}$ ) (Sathyendranth et al. 1987; Siebhurt et al. 1978). Mikrofytoplankton dominerer i næringsrike områder, og i oligotrofe systemer er primærproduksjonen dominert av små fyttoplankton (Li & Platt 1987; Nair et al. 2008).



Karbondioksid ( $\text{CO}_2$ ) som slippes ut til atmosfæren har tre mulige skjebner; det absorberes av terrestriske økosystem; det absorberes av marine økosystem; eller det fortsetter å eksistere i atmosfæren (Nair et al. 2008). Ifølge House et al. (2002) blir rundt 35 % absorbert på land og 26% absorbert av havet. En viktig prosentandel av den globale karbonsyklusen foregår altså i havet, og i årene som kommer blir det viktig å få en forståelse om hvordan produksjon og mineralisering av DOC reguleres i marine systemer. DOC i havet representerer et karbonlager som kan sammenlignes med størrelsen av  $\text{CO}_2$  i atmosfæren, og konsentrasjonen av  $\text{CO}_2$  i atmosfæren er i likevekt med  $\text{CO}_2$  i havoverflaten (Hedges 2002). Alle marine organismer produserer DOC, med unntak av heterotrofe prokaryoter som konsumerer DOC (Vadstein 2011). Bakteriell produksjon vil i mange tilfeller bli begrenset av karbon, men også andre faktorer kan påvirke hastigheten DOC konsumeres, som igjen vil påvirke produksjonen av  $\text{CO}_2$ . Uansett om det er karbon, eller andre faktorer som begrenser produktiviteten, er dette en viktig faktor som bestemmer i hvilken grad havet klarer å «fange» karbonet (Vadstein 2011). Vi har gode kunnskaper om resirkulering av organisk og uorganisk karbon, men har manglende kunnskaper når det kommer til nitrogen (N) og fosfor (P) (Elser et al. 2007). Flere studier viser at bakteriell produktivitet begrenses av næringssalter (N og P) heller enn av organisk karbon (Rivkin & Anderson 1997; Sala et al. 2002; Van Wambeke et al. 2002). En begrensning av mineralnæringssalter er like normalt som en begrensning av karbon (energi). Bakteriene har en viktig rolle i resirkuleringen av mineralnæringssalter, både som konkurrent med autotrofe og som byttedyr for større organismer (Vadstein 2000; Church 2008). Det er bekreftet at i marine systemer er de dominerende mortalitetsfaktorene for bakterier beiting (i hovedsak av protozoer) og virusinfeksjoner (Breidbart et al. 2008; Jürgens & Massana 2008).

Mange studier har fokusert på lineære næringskjeder eller situasjoner med to predatorer som deler samme bytte. I planktoniske næringsnett vil det være mer komplisert da mange predatorer velger maten basert på størrelse. Større predatorer med likt størrelsesspekter på byttedyr overlapper hverandre i stor grad på grunn av ulike fôringsstrategier (fagotrofi, filtrering, aktiv beiting etc.) (Vadstein et al. 2004). Om en økt input av næringsstoffer til akvatiske systemer vil øke algevekst eller ikke er avhengig av strukturen på næringsnettet, og spesielt avhengig av hvilke predatorer som finnes der og antall trofiske nivåer (Hairston et al. 1960). Flere studier har undersøkt dyreplanktonets evne som predatorer til å kontrollere biomasse på lavere trofiske nivå (Stibor et al. 2004; Vadstein et al. 2004). Det er vel etablert at fytoplanktonet er en funksjonell gruppe som er avhengig av tilførsel av næringssalter (eks. Cloern 2001), samt at direkte og indirekte predasjon kan påvirke strukturen på næringsnettet.

Resultatet blir en begrenset vekst og biomasserrespons hos autotrofe organismer (Sommer & Stibor 2002; Stibor et al. 2004; Vadstein et al. 2004). Interaksjonene er mer studert i ferskvann og det er større usikkerhet rundt kaskadeeffektene fra høye trofiske nivåer på de lavere trofiske nivåene i marine systemer (Shurin et al. 2002, Sommer and Stibor 2002). Det vi vet er at store beitedyr (som for eksempel kopepoder) påvirker strukturen av næringsnett på lavere nivåer via predasjon (Stibor et al. 2004, Vadstein et al. 2004). Predatorer vil derfor med stor sannsynlighet bidra som en buffer som følge av responsen hos fyttoplanktonet når næringstilgangen øker. Sundt-Hansen et al. (2006) gjorde et forsøk der utfallet viste at kopepoder indirekte kontrollerte tettheten av PCY via trofiske kaskader fra toppen og ned. PCY er en viktig prokaryot autotrof organismegruppe som representerer en stor del av fyttoplanktonbiomassen i havet (Johnson & Siebhurt 1979, Waterbury et al. 1979). Andre studier har vist at størsteparten av dietten til HNF består av autotroft pikoplankton (inkludert PCY) og BAK (Weisse 1993; Dolan & Šimek 1999). Det har også vist seg at CIL er en viktig predator av PCY (Šimek et al. 1996; Christaki et al 1999).

Flere teorier går ut på at dersom et system domineres av motstandsdyktige planter og herbivore, vil det danne et system med økt produktivitet. I slike systemer vil graden av kontroll fra toppen og ned gjennom mange trofiske nivå reduseres når tilgangen på næring øker (Leibold 1996; Chase 1999; Steiner 2001). Det er typisk med en dominans av to funksjonelt ulike typer herbivore i marine næringsnett; metazoer (vanligvis kopepoder) og protozoer (vanligvis ciliater) (Pierce & Turner 1992; Sherr et al. 1996). Ciliater og nauplier av kopepoder har et overlappende størrelsesspekter på matpartikler, men ulik beitehastighet da kopepodene normalt er mye større enn ciliatene (to til tre ganger større) (Hansen et al 1994; Gismervik et al. 1996). Ciliatene har en typisk størrelse på mellom 10-40  $\mu\text{m}$ , og er midt i størrelsesspekteret som bytte for kopepodene, og det er bekreftet at kopepodene kan bytte fra filtrering av partikler til aktiv beiting (Hansen et al. 1994; Pierce & Turner 1992; Gismervik et al. 1996; Gismervik & Andersen 1997). Kopepodene vil selektivt beite på ciliatene da de er større matpartikler, og vil således danne et omnivort system der kopepodene kan beite direkte på dets konkurrenter (ciliater) og maten det konkurreres om (alger) (Vadstein et al. 2004). I slike tilfeller vil beitetrykket på ciliatene kunne resultere i en redusert beitekontroll av algebiomassen. Et omnivort system der en gruppe beiter på mer enn ett trofisk nivå, eller er en komponent i en eller flere næringskjeder, kan øke eller redusere den indirekte positive effekten som utøves på en spesifikk art i en næringskjede (Stibor et al. 2004).

Ciliater har en høyere reproduktiv kapasitet sammenlignet med kopepoder (Vadstein et al. 2004). Alger og ciliater har en sammenlignbar maksimal spesifikk veksthastighet, og som er 2 til 20 ganger raskere enn kopepoder (Gismervik et al. 1996; Hansen et al. 1997). I et system der det er nok tilgang til næring, og algene og ciliatene danner en tett predator-byttedyr interaksjon, kan algene utkonkurrere kopepodene. Den spesifikke veksthastigheten forteller noe om hvor fort celletettheten øker, og tapshastigheten sier noe om i hvor stor grad biomassen går tapt ved predasjon og viruslysis. Den spesifikke endringshastigheten forteller noe om hvor fort en gruppe organismer endrer tetthet i løpet av et døgn, og som er et resultat av vekst minus tap. Når tettheten er uendret er endringshastigheten lik null, og da er vekstraten lik tapsraten. Ved positiv endringshastighet er vekstraten større enn tapsraten og ved negativ endringsrate er tapsraten større enn vekstraten.

### **2.1 Analytisk metode; BD Accuri C6<sup>®</sup> Flow Cytometer**

En mye brukt metode i studiet av oppbygging og komposisjon av mikrobielle samfunn er Flow Cytometri (FCM) (*Figur 2.1*). FCM ble utviklet på 1960-tallet og brukt innen medisin. Mikrobiologer tok i bruk verktøyet ti år senere (Bailey et al. 1977; Paaui et al. 1977), og først på midten av 1980-tallet ble FCM første gang brukt for fytoplanktonanalyser i kultur og i felt (Trask et al. 1982; Yentsch et al. 1983; Olson et al. 1985). Siden da har FCM blitt en godt etablert metode for kvantifisering og identifisering av mikrober i akvatiske prøver (Lebaron et al. 1998; Lebaron et al. 2002; Rose et al. 2004; Wang et al. 2010; Christaki et al. 2011).

En av fordelene med FCM er at den på en hurtig og effektiv måte både teller, måler og isolerer individuelle celler fra multiple prøver uten nødvendigvis en fysisk tilstedeværelse av en operatør under selve analysen (Olson et al. 1993; Wang et al. 2010; Van Nevel et al. 2013). Maskinen kan telle opptil 50 000 celler per sekund med høy nøyaktighet (<5 % maskinfeil). En av de største fordelene er muligheten til å sortere celler ved hjelp av multiple parametere (kombinasjon av optiske karakteristikk) slik at analyse på enkeltcellenivå er mulig. I tillegg er det sensitivt, som betyr at den registrerer svakt fluorescerende celler, som er for svake til å oppdage med vanlig mikroskop. Noen ulemper ved metoden er at den er begrenset til relativt små prøver i væskeform. I tillegg er oppløsningen noe begrenset, som betyr at det sjeldent identifiseres til slekt eller art. Det er også en relativt høy grense for påvisning av visse typer bakterier, og selv om de første trinnene i håndteringen av FCM er relativt rett frem kan selve dataanalysen være noe sofistisert (Olson et al. 1993; Wang et al. 2010).



**Figur 2.1:** *BD Accuri C6<sup>®</sup> Flow Cytometer.*

FCM måler og teller celler i flytende suspensjon der cellene justeres hydrodynamisk ved hjelp av en omkringliggende væske inn i en smal strøm (10-20  $\mu\text{m}$  bred), der en eller flere kraftige lyskilder (kvikksølvlamper eller lasere) er rettet mot prøven (Marie et al. 2005). Når en celle passerer lyskilden vil lyset spres enten ved brytning eller refleksjon. Intensiteten og lysvinkelen avhenger av brytningsindeksen, samt størrelsen og formen på cellen. De vanligste detektorene for lysspredning ligger i en vinkel i forhold til lyskilden, en vinkel på  $90^\circ$  (lysspredning til siden, SSC) og  $0^\circ/180^\circ$  (lysspredning samme retning som lyskilden, FSC). Begge parameterne er relatert til cellestørrelse, men SSC kan også relateres til celleoverflate og -struktur (Morel 1991; Green et al. 2003).

FCM bruker ulike kanaler for å trigge ulike typer pigmentgrupper og tilhørende fluorescens (Marie et al. 2005). Fluorescenssignalene som fanges opp kan enten være fra naturlige pigmenter (f.eks. klorofyll) eller fra farging ved bruk av fluorescerende fargestoffer (f.eks. SYBR<sup>®</sup> Green I). Fytoplankton har naturlige fluorescerende pigmenter som brukes til å skille fotosyntetiske celler fra heterotrofe organismer og uorganiske partikler. De vanligste pigmentene er klorofyll, fykoerytrin og fykocyanin. De to sistnevnte er fykobilliproteiner som er vanlig å finne hos cyanobakterier. Laseren som FCM er utstyrt med eksiterer normalt på en bølgelengde på 448 nm. Både klorofyll og fykoerytrin eksiteres best på denne bølgelengden med en fluorescens på henholdsvis 690 nm (rødt) og 570 nm (oransje). Fykocyanin derimot eksiteres best på 620 nm med en fluorescens på 640 nm (rødt). Kanalene som FCM (BD Accuri) bruker for å trigge de ulike pigmentgruppene er FL2 (fykoerytrin, oransje fluorescens  $585 \pm 20$  nm) og FL3 (klorofyll  $a$ , rød fluorescens  $>675$  nm). En tredje kanal, FL1, brukes for å trigge

grønn fluorescens ( $533 \pm 15$ ) som er signaler som fanges opp fra partikler som er farget med for eksempel SYBR<sup>®</sup> Green I, og ikke en spesifikk pigmentgruppe slik som FL2 og FL3 (Marie et al. 2005). Så dersom cellen inneholder en fluorescerende forbindelse med likt absorpsjonsspektra som eksiteringskilden (f.eks. blått lys for klorofyll), vil cellen emitte fluorescens på en høyere bølgelengde (f.eks. rødt lys for klorofyll). Disse pulsene med lys oppdages av fotodioder, eller fotomultiplikatorer, og konverterer til digitale signaler som prosesseres av en datamaskin. Resultatene dukker opp på dataskjermen som mono-parametriske histogrammer eller bi-parametriske cytogrammer. Dataene kan så prosesseres videre for å skille mellom spesifikke populasjoner av celler og estimere både konsentrasjon og gjennomsnittlig celleparametere ved hjelp av programvaren (Marie et al. 2005). I denne prosessen er det viktig at riktig terskelverdi brukes. En terskelverdi er en grense som settes slik at uønskede signaler kan utelukkes. Det er avgjørende å sette en terskelverdi som er høy nok til å utelukke optisk og elektronisk støy, men lav nok slik at ingen målceller utelukkes.

Strømningshastigheten og størrelsen på prøven er to kritiske parametere da disse direkte påvirker tiden som kreves for å analysere en prøve (Nevel et al. 2013). Strømningshastigheten må justeres avhengig av hvilke celler som skal måles for å opprettholde de laminære strømningsforhold som kreves, og for å kontrollere antall hendelser som skal analyseres per tidsenhet (Marie et al. 2005). For eksempel dersom en eller flere celler passerer lyskilden samtidig, eller dersom to celler ligger nær hverandre, og passerer strålen når instrumentet er opptatt med å lagre informasjon fra den forrige cellen, blir dette registrert som kun en enkelt hendelse. Dette fenomenet kalles for *tilfeldighet* og resulterer i underestimering av konsentrasjonen av celler (Marie et al. 2005). Justering av strømningshastighet og/eller fortykning av prøven er tiltak som kan utføres for å hindre at tilfeldigheter oppstår.

Se brukerhåndboken for mer teknisk informasjon og generell forberedelse, kalibrering og håndtering av verktøyet (BD CSampler<sup>™</sup> Software User Guide).

### 3 Materiale og metoder

#### 3.1 Studieområdet

Feltarbeidet besto av to forsøk (mesokosme og mikrokosme) som ble utført som en del av prosjektet 'Ocean Certain' ([www.oceancertain.eu](http://www.oceancertain.eu)). Arbeidet foregikk på Huinay feltstasjon (42° 22'S, 72° 24'V) lokalisert i Hualaihue kommune nord i Patagonia i Chile, mellom Comaufjorden i Palena provinsen i vest og grensen til Argentina i øst (*Figur 3.1*). Feltprotokollen ble opprettet i et samarbeid mellom student og veiledere, med bakgrunn i lignende forsøk. Feltarbeidet foregikk i perioden fra 24.10.2014 til 24.11.2014.



**Figur 3.1:** Kart over studieområdet som viser plasseringen av Huinay feltstasjon som ligger mellom Comaufjorden i vest og grensen til Argentina i øst. (Kilde: [www.openstreetmap.org](http://www.openstreetmap.org))

#### 3.2 Eksperimentelt design

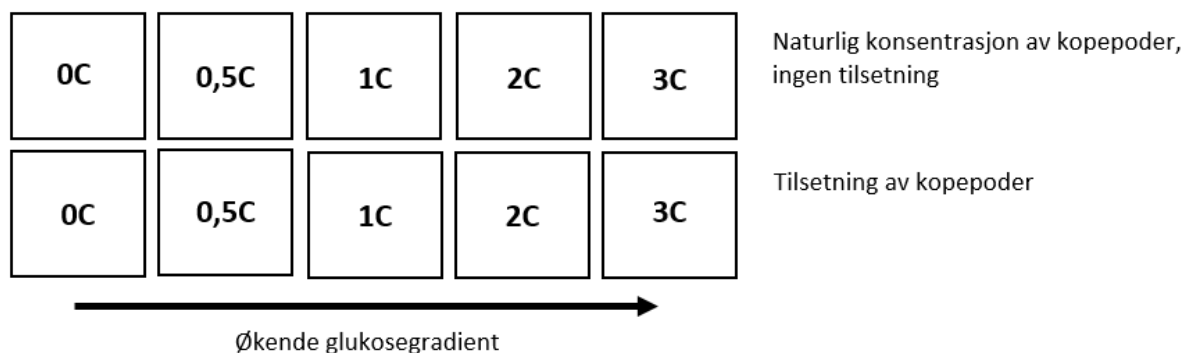
For både mesokosme- og mikrokosmeforsøkene ble det benyttet to eksperimentelle faktorer; tilsetning av glukose og konsentrasjon av mesodyreplankton (kopepoder). Hensikten med gradientene var å manipulere systemene for å undersøke hvordan predatorene i et system kan påvirkes av det som skjer med pikoplanktonet i bunnen av næringsnett, og hvordan pikoplanktonet kan påvirkes fra toppen av næringsnett dersom mengden predatorer øker. I starten av forsøkene ble halvparten av mesokosme- og mikrokosmetankene tilsatt en kjent konsentrasjon av kopepoder (høy beiting, HB-tanker) og den andre halvparten fikk ingen tilsetning (lav/normal beiting, LB-tanker). Mesodyreplankton ble høstet ved gjentatte horisontale håv trekk med Bongo-nett (100  $\mu\text{m}$  og 200  $\mu\text{m}$  maskevidde) som var utstyrt med en tett oppsamlingspose. Håven ble tauet i 20 minutter på rundt 20 meters dyp.

I tillegg til to ulike konsentrasjoner av kopepoder ble det tilsatt fem ulike konsentrasjoner av glukose (0, 0,5, 1, 2 og 3 \*  $C_{\text{Redfield}}$ :15:15:1 molar for N: Si: P). For både LB- og HB- tankene ble glukose og uorganiske næringsalter tilsatt daglig. N ble tilsatt som nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), P som fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) og Si som silikat, med en dose på henholdsvis 1,00, 0,07 og 1,00  $\mu\text{mol l}^{-1} \text{d}^{-1}$ . De uorganiske næringssaltene var konsentrerte løsninger som ble kalkulert til en endelig konsentrasjon på bakgrunn av mengden vann i tankene.

Vannet benyttet i forsøkene var naturlig sjøvann og ble hentet fra 10-12 meters dyp fra Comaufjorden ved hjelp av syrevaskede pumper og slanger. For å unngå kontaminering ble det sørget for at vannstrømmen ikke var i kontakt med metallgjenstander. Saliniteten lå på rundt 28 psu og temperaturen varierte mellom 9,5 og 12°C for begge forsøkene.

### 3.2.1 Mesokosme

Et mesokosmeforsøk er forsøk utført i storskala som muliggjør simuleringer fra naturlige miljø, der ulike miljøfaktorer kan manipuleres. I dette forsøket besto mesokosme enhetene av ti polyetylentanker (spesialbygde i Chile og levert direkte til feltstasjonen) på 1 m<sup>3</sup> som ble fylt med 1000 liter sjøvann (Figur 3.2). Under hele forsøket var tankene festet til en flytebrygge som lå ute i fjorden (ti dager). HB-tankene fikk tilsatt kopepoder på rundt 50 individer l<sup>-1</sup>. Tidlig i forsøket (dag 2) ble det registrert at ulikheten mellom LB- og HB-tankene var kun 15%, så en ny tilsetning av kopepoder ble nødvendig. Tankene hadde en naturlig miksing ved hjelp av bølgene, og ved behov ble de rotert manuelt.



**Figur 3.2:** Eksperimentelt oppsett for mesokosmeforsøket med ti polyetylentanker og to eksperimentelle variabler; tetthet av kopepoder (to nivå) og tilsetning av glukose (fem nivåer). Glukosegradienten gikk fra 0C til 3C (0, 0,5, 1, 2 og 3 x Redfield), og samtlige tanker fikk lik tilsetning av N, P og Si ( $C_{\text{Redfield}}$ : N: Si: P = 15:15:1 molar). Fem tanker ble i tillegg tilsatt en kjent konsentrasjon av kopepoder.

### 3.2.2 Mikrokosme

Et mikrokosmeforsøk er et forsøk lik mesokosme, men i mye mindre skala. I dette forsøket besto mikrokosme enhetene av 60 sammenleggbare polyetylentanker (disponert av feltstasjonen) som ble fylt med 20 liter sjøvann. Under hele forsøket var tankene plassert i et rom innendørs med simulerte lysforhold (elleve dager). Vannet brukt til LB-tankene ble screenet forsiktig på 200  $\mu\text{m}$  for å fjerne de største predatorer, og HB-tankene fikk tilsatt rundt 30 ind.  $\text{l}^{-1}$ . Tankene ble rotert manuelt flere ganger om dagen.

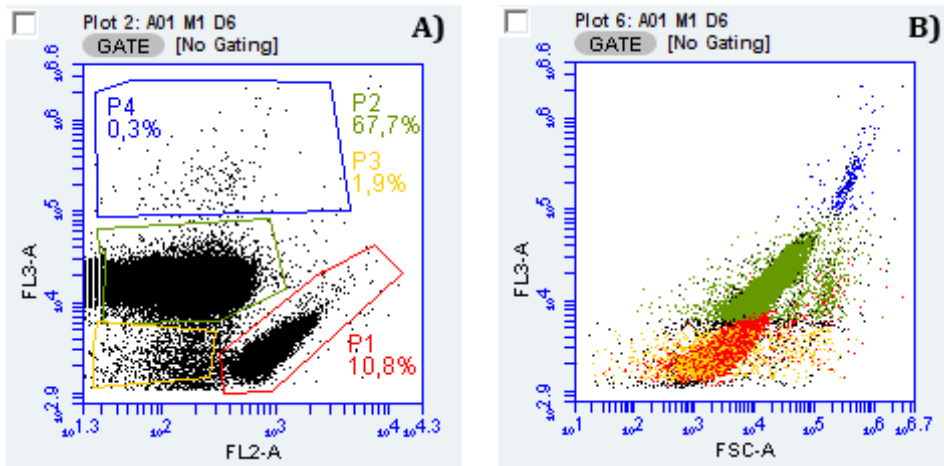
### 3.3 Analyser med flow cytometri

Tallfesting og identifisering av PCY, BAK og HNF ble utført ved bruk av flow cytometri (FCM). Datainnsamlingen og analysene av vannprøvene ble utført som oppgitt i *Tabell 3.1*, og tetthetsplottene ble lagd ved bruk av BD Accuri C6<sup>®</sup> Software. I tillegg til å telle og å identifisere celler, målte også FCM intensiteten av fluorescens. Terskelverdien som ble satt er høy nok til å utelukke optisk og elektronisk støy, og lav nok til å inkludere ønskede celler.

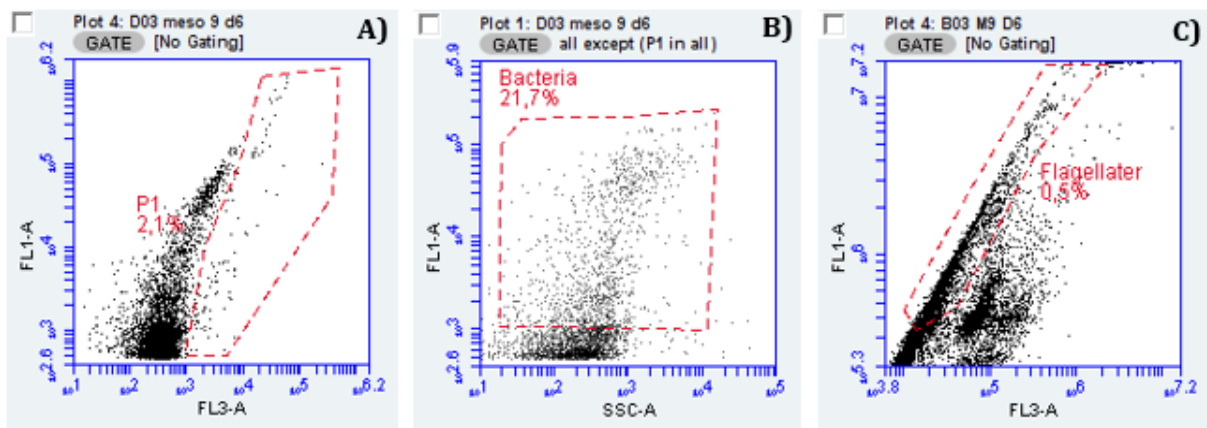
På bakgrunn av tidligere kunnskaper om hvor slekten *Synechococcus* posisjonerer seg i et tetthetsplot, ble datainnsamlingen og fremstillingen av fytoplanktonet (PCY) trigget ved kanalene oransje og rød fluorescens (FL2 og FL3), samt lysspredning i samme retning som lyskilden (FSC) (*Figur 3.3*). Andre fytoplanktongrupper som ble detektert var pikoeukaryote, og annet piko- og nanoplankton. De sistnevnte gruppene er ikke inkludert videre i oppgaven.

Analyse av heterotrofe celler krever fiksering og farging med nukleinsyrespesifikke metoder (Marie et al. 2005). Glutaraldehyd er et vanlig konserveringsmiddel som brukes for mikrober i saltvann (Sherr & Sherr, 1993). Fargemetoden som er anbefalt for tallfesting av heterotrofe celler, inkludert marine bakterier, er SYBR Green I, da den har et høyt fluorescerende utbytte (Marie et al. 1997, Marie et al. 2005). Datainnsamlingen og fremstillingen av BAK ble trigget ved kanalene grønn fluorescens (FL1) og lysspredning til siden (SSC), og HNF ved kanalene rød fluorescens (FL3) og grønn fluorescens (FL1) (*Figur 3.4*) (Tarran & Bruun, 2015).





**Figur 3.3:** Tetthetsplott for fytoplankton lagd ved bruk av BD Accuri C6® Software. **A)** Fytoplankton plottet med rød fluorescens (FL3) mot oransje fluorescens (FL2); og **B)** rød fluorescens (FL3) plottet mot lysspredning i samme retning som lyskilden (FSC). Forklaringer til gatingen i A) er P1 for slekten *Synechococcus*, P2 for pikoekaryote organismer, P3 for annet pikoplankton og P4 for nanoekaryoter. X- og y-aksene er logaritmiske.



**Figur 3.4:** Tetthetsplott for heterotrofe bakterier (BAK) og -nanoflagellater (HNF) lagd ved bruk av BD Accuri C6® Software. **A)** BAK plottet med grønn fluorescens (FL1) mot rød fluorescens (FL3); **B)** BAK plottet med grønn fluorescens (FL1) mot lysspredning til siden; og **C)** HNF plottet med grønn fluorescens (FL1) mot rød fluorescens (FL3). Fytoplankton med signifikant rød fluorescens (P1) ble ekskludert fra plottet i B) slik at heterotrofe bakterier kunne tallfestes. X- og y-aksene er logaritmiske.

**Tabell 3.1:** Oversikt over oppsettet på flow cytometeret (FCM) for analyseringen av vannprøver for pikocyanobakterier (PCY), heterotrofe bakterier (BAK) og heterotrofe nanoflagellater (HNF).

Funksjonell gruppe	Tidsbegrensning (min)	Strømnings hastighet ( $\mu\text{l min}^{-1}$ )	Kjernestørrelse ( $\mu\text{m}$ )	Terskelverdi	Kanaler brukt til gating	Andre kanaler brukt
PCY	1 til 4	66 (medium)	22	FL3:1000	FL2/FL3	FSC/FL3
BAK	1 til 2	35 (rask)	16	FL1:500	SSC/FL1	FL1/FL2
HNF	6	100 (tilpasset)	15	FL1:10 000	FL3/FL1	FL1/SSC

### 3.4 Prøvetaking og konservering av prøver

All prøvetaking ble gjort før daglig tilsetning av glukose og uorganiske næringssalter omtrent klokken 09:00, med unntak av døgnforsøket. Vannprøvene ble tatt fra samtlige tanker ved hjelp av syrevaskede silikonslanger og -pumper, og overført til mindre plastdunker. Prøvematerialet ble fordelt på flere sub-prøver, der rundt 100 ml ble brukt til analysering av sammensetningen i piko- og nanoplanktonsamfunn.

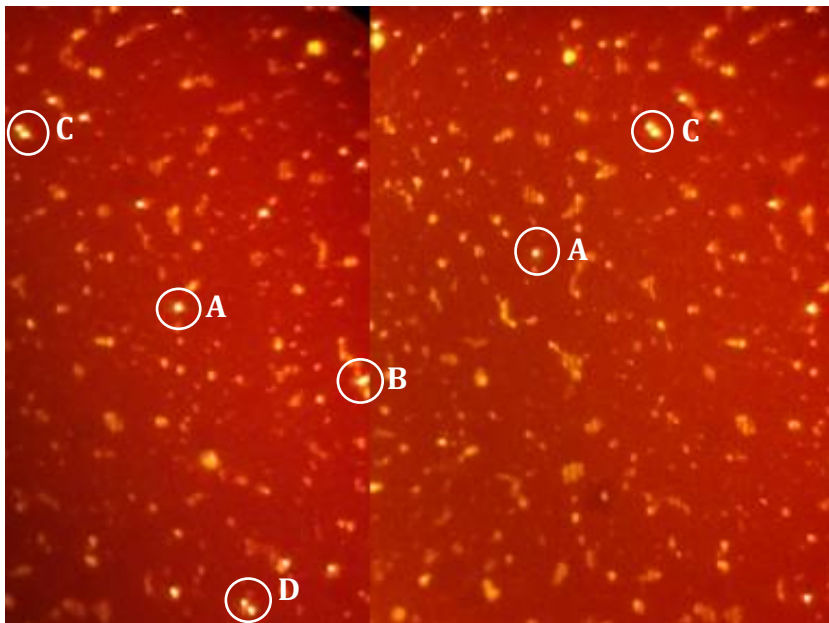
Autotrofe celler har naturlig sammensetning av pigmenter og analysene for fytoplanktonet (inkludert PCY) krevde ingen forbehandling. Fokus innenfor fytoplanktonet var PCY av slekten *Synechococcus*, så data fra andre fytoplanktongrupper er ikke vist. 1 ml prøvemateriale fra respektive tanker ble overført til ti tuberør som ble plassert på et stativ, inkludert et ekstra rør med 0,2 µm filtrert sjøvann (FSV).

Analyse av heterotrofe celler krever fiksering og farging med nukleinsyrespesifikke metoder. Forberedelse av prøver for analysering av BAK og HNF ble utført kort tid etter prøvetakingen. Bakterieprøvene ble fortynnet 1:100 ved at 5 µl prøvemateriale ble overført til eppendorfrør og fortynnet med 495 µl autoklavert og filtrert (0,2 µM) sjøvann. Fortynningene (500 µl) ble mikset med vortex i et par sekunder og overført til ti tuberør på et stativ. Et ekstra tuberør med 0,2 µM filtrert sjøvann (FSV) ble inkludert og ble kjørt mellom prøvene fra ulike dager for å kunne trekke fra bakgrunnsstøy. For HNF ble 1 ml prøvemateriale overført til respektive tuberør, og fiksert (40 µl 25% glutaraldehyd, sluttkonsentrasjon 1%) og inkubert i to timer. Prøvematerialet for BAK og HNF ble så farget med henholdsvis 5 µl og 10 µl SYBR® Green I nukleinsyre gel farge (10 000x i DMSO, Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., arbeidsløsning på 1:50 framstilt fra stamløsning fra leverandøren) og inkubert på en mørk plass i minst ti minutter for BAK og minst to timer for HNF.

Noe av prøvematerialet (1,8 ml) ble fiksert (72 µl glutaraldehyd) og lagret til senere analyser av piko- og nanoplankton. Etter fiksering og inkubering (mørkt i minst ti minutter) ble prøvematerialet raskt frosset på flytende nitrogen. Prøvene sto lagret i flytende nitrogen og ble fraktet til Trondheim. Her ble prøvene holdt ved -80° C inntil videre analyse.

### 3.5 Veksthastighet for autotroft (PCY) og heterotroft (BAK) pikoplankton

Frekvensen av delende celler (FDC) ble brukt til å beregne spesifikk veksthastighet for PCY. For å finne FDC for PCY ble et Zeiss Axioplan2 Epifluorescens mikroskop benyttet. Prøvemateriale (5 ml) ble fiksert med 200  $\mu$ l glutaraldehyd (25 %, sluttkonsentrasjon 1 %), og inkubert mørkt i minst ti minutter før filtrering. Celler fiksert med glutaraldehyd vil ha en svak grønn auto fluorescens når de eksiteres ved blått lys ved bruk av epifluorescens mikroskop (Sherr og Sherr, 1993). Filtreringen ble gjort med et vakuum-filtreringsapparat og filtrene som ble benyttet var Millipore polykarbonatfiltre (25 mm i diameter, 0,2  $\mu$ m). Filtrene ble lufttørket før de ble plassert i lystette oppbevaringsbokser inntil videre analyse. Ved telling på epifluorescens mikroskopet ble et eksitasjonsfilter med grønt bølgeband (520-560 nm) benyttet (Maclsaac og Stockner, 1993). Et minimum av fire synsfelt med 200 celler totalt og nok synsfelt for å detektere 30 delende celler ble telt per filter. Delende celler var celler med doble kjerner og to celler sammen under mitose, sammenlignet med individuelle celler med kun én kerne og som tydelig ikke var under celledeling (*Figur 3.5*). 64,3 % av tellingene oppfyller disse kravene, selv om det i de fleste prøvene måtte telles mer enn fire synsfelt. Estimering av  $\mu_{PCY}$  FDC ble utført i henhold til Campell & Carpenter (1986) og Jahan et al. (2001).



**Figur 3.5:** Utsnitt fra epifluorescens mikroskop fra mesokosmeforsøket, her vist med oransje auto fluorescens av slekten *Synechococcus* ved 100x forstørrelse og ved grønt eksiteringsbånd. Prikkene som lyser sterkest oransje er *Synechococcus* celler, her vist som (A) enkeltceller, (B) delende celler, (C) i slutten av celledelingen der to celler begynner å bli synlig, og (D) ferdig med celledelingen.

Bakterieproduksjonen ble beregnet ved å måle inkorporering av tritium-merket leucin ( $^3\text{H}$ -Leu) i henhold til Smith & Azam (1992). Den fysiologiske bakgrunnen for leucin metoden er proteinsyntesen, og store fraksjoner av den bakterielle biomassen består av proteiner (omtrent 60%) (Kirchman, 1993). Ved å vite andelen av proteiner av total biomasse, kan hastigheten av proteinsyntesen konverteres til total biomasse produksjon. Metoden går således ut på å måle inkorporert radiomerket leucin i bakterielt protein over tid. Prøvene ble tilsatt 60 nM  $^3\text{H}$ -Leucin ( $112,0 \text{ Ci mmol}^{-1}$ ,  $5,0 \text{ mCi ml}^{-1}$ ) og inkubert i 60 minutter. Ved omregning fra bakteriell karbonproduksjon til celleproduksjon ble det brukt en omregningsfaktor på 20 fg C per celle (Thingstad og Vadstein personlig meddelelse).

### 3.6 Kjemiske analyser

En oversikt over hvilke variabler og tilhørende metoder som ble brukt i dette studiet er oppført i *Tabell 3.2*.

Klorofyll *a* (Chl *a*) ble målt fluorometrisk i henhold til Parsons et al. (1984). Total klorofyll *a* (chl *a*) og ulike størrelsesfraksjoner av chl *a* ble målt hver dag. For total chl *a* biomasse ble 200 ml prøvemateriale filtrert på 47 mm diameter nukleopore filtre med porestørrelse 0,2  $\mu\text{m}$ . For fraksjonert Chl *a* ble 200 ml prøvemateriale først filtrert gjennom en 20  $\mu\text{m}$  planktonduk og samlet på et 2,0  $\mu\text{m}$  filter (2-20  $\mu\text{m}$  fraksjon). Vannet som passerte gjennom 2,0  $\mu\text{m}$  filteret ble så samlet på et GF/F filter for å måle < 2  $\mu\text{m}$  fraksjon. For å finne > 20  $\mu\text{m}$  fraksjonen ble de to andre størrelsesfraksjonene trekt fra total Chl *a* biomasse.

Oppløst organisk karbon (DOC) ble analysert ved hjelp av en Shimadzu TOC analysator (total organisk karbon) etter filtrering ved 0,2  $\mu\text{m}$  og konservering ved tilsetning av syre (HCl). Konsentrasjonen av nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) og silikat (data ikke vist) ble målt daglig ved hjelp av en manuell eller med auto-analysator. Den nedre deteksjonsgrensen for analysering av uorganiske næringssalter ble satt til å være rundt 0,2  $\mu\text{M}$ .

Mikrodyreplankton (ciliater) ble telt ved å bruke et flowkamera med svart og hvitt bildebehandling (FlowCAM<sup>®</sup> II, Fluid Imaging Technologies), og mesodyreplankton (kopepoder) ble telt manuelt ved hjelp av stereolupe.

**Tabell 3.2:** Oversikt over variabler som ble målt i mesokosme- og mikrokosmeforsøket.

Variabel	Metode
Temperatur og lys	Sensor, HOBO, CTD
Konsentrasjon av makronæringsstoffer	Manuell eller autoanalysator
Total og fraksjonerte klorofyll konsentrasjoner	Fluorometer
Total organisk karbon (TOC), løst organisk karbon (DOC)*, partikulært organisk karbon (POC), partikulært organisk nitrogen (PON)	C/N elementanalysator
Celletellinger eukaryotiske fytoplankton, cyanobakterier, heterotrofe bakterier, og heterotrofe nanoflagellater	BD Accuri C6 <sup>®</sup> Flow cytometer
Mikrodyreplankton og større fytoplankton	FlowCAM <sup>®</sup>
Bakteriell produksjon	Leucin-inkorporering
Frekvensen av delende celler	Zeiss Epifluorescens mikroskop
Mesodyreplankton	Manuell telling med stereolupe

\* Målingene for DOC ble dårlige og kunne ikke brukes til videre analyse.

### 3.7 Kontrollforsøk

For å kvalitetssikre datainnsamlingen med tanke på riktig triggering og gating på FCM og riktig tidspunkt for prøvetaking til FDC for PCY og for å vurdere døgntrender for vekst- og tapshastigheter, ble det i tillegg til mesokosme- og mikrokosmeforsøkene utført filtrerings- og døgnforsøk. Hensikten med *filtreringsforsøket* var å kartlegge størrelsen på partiklene tilstede i prøvematerialet og observere ved hvilke filterstørrelser de fleste partiklene forsvant. Forsøket ble utført ved å ta én vannprøve fra én utvalgt mesokosmetank. Det samme vannvolumet (5 ml) ble filtrert gjennom åtte ulike filtre (Millipore 10 µm til 0,2 µm, 25 mm) ved hjelp av et vakuumfiltreringsapparat. Det filtrerte vannet for hver filterstørrelse, inkludert en prøve med ufiltrert sjøvann, ble så analysert på FCM med lik triggering som for fytoplanktonanalysene (oransje fluorescens mot rød fluorescens).

Hensikten med *døgnforsøket* var å observere om PCY hadde en varierende celledeling over et døgn, og eventuelt når på døgnet celledelingen var mest effektiv. Forsøket ble utført i perioden 04.11-05.11.16 (dag 4 til dag 5 i mesokosmeforsøket). Tre tanker ble benyttet (LB 0C, LB 1C og HB 2C) og det ble tatt prøver hver fjerde time. Den første prøvetakning var klokken 12:00. Prøvene krevde ingen forbehandling og ble analysert fortløpende ved bruk av FCM med lik triggering som for fytoplanktonanalysene (oransje fluorescens mot rød fluorescens). Spesielt viktig i dette forsøket var å finne frekvensen av delende celler (FDC) for PCY.

### 3.8 Beregninger

Celletetthet for PCY og HNF ble beregnet ved (ligning 1) og BAK ved (ligning 2):

$$\frac{\text{celler totalt}}{\mu\text{l}} = 10^6 \text{ celler } l^{-1} \quad (\text{Ligning 1})$$

$$\frac{\text{celler totalt} - FSV}{\mu\text{l}} * \frac{\text{fortynning av prøve}}{1000} = 10^9 \text{ celler } l^{-1} \quad (\text{Ligning 2})$$

FDC ble uttrykt som en prosentandel av det totale antallet delende celler per filter delt på totalt antall celler per filter. Prosenten av FDC ble kalkulert ved:

$$FDC (\%) = \frac{N_{del}}{N_{tot}} * 100 \quad (\text{Ligning 3})$$

der  $N_{del}$  er antall delende celler og  $N_{tot}$  er total antall celler.

De spesifikke endringene i populasjonene av PCY og BAK ble beskrevet ved:

$$\frac{dN}{dt} \frac{1}{N} = r = \mu - t \quad (\text{Ligning 4})$$

der  $\frac{dN}{dt}$  er endringen i celletall (N) over tid, r er spesifikk endringshastighet,  $\mu$  er spesifikk veksthastighet og t er tapshastighet. Tapshastigheten påvirkes av biomassen av predatorer (p) og virus (v). Alle hastighetene er oppgitt som  $d^{-1}$ .

Den spesifikke endringshastighet (r) ble beregnet fra:

$$r = \ln \frac{N_{n+1}}{N_n} \quad (\text{Ligning 5})$$

der  $N_n$  er celletall på dag n, og  $N_{n+1}$  er celletall på dag n+1.

Den spesifikke veksthastigheten for PCY og BAK beregnes ut fra:

$$\mu_{FDC} = \ln \frac{(1 + FDC)}{100} * \frac{24}{t_D} \quad (\text{Ligning 6})$$

$$\mu_{leucin} = \ln \frac{(N_n + P)}{N_n} * 24 \quad (\text{Ligning 7})$$

der  $N_n$  er celledetallet per døgn og  $P$  er bakteriell produksjon, gitt som  $10^9$  celler  $l^{-1}$  og  $P$  for en periode på 1 time.  $t_D$  er varigheten av celledelingen og er en parameter som er nødvendig i kalkuleringen av veksthastigheten.  $t_D$  ble bestemt i henhold til Campbell & Carpenter (1986) og satt til 3 timer (0,125 d) for  $\mu_{PCY}$  for mesokosme- og mikrokosmeforsøket. For døgnforsøket ble  $t_D$  satt til 4 timer (0,167 d) på bakgrunn av at prøvetakingen ble gjort seks ganger i løpet av et døgn. Tapshastigheten ble regnet ut som differansen mellom  $\mu$  og  $r$ .

### 3.9 Statistiske analyser

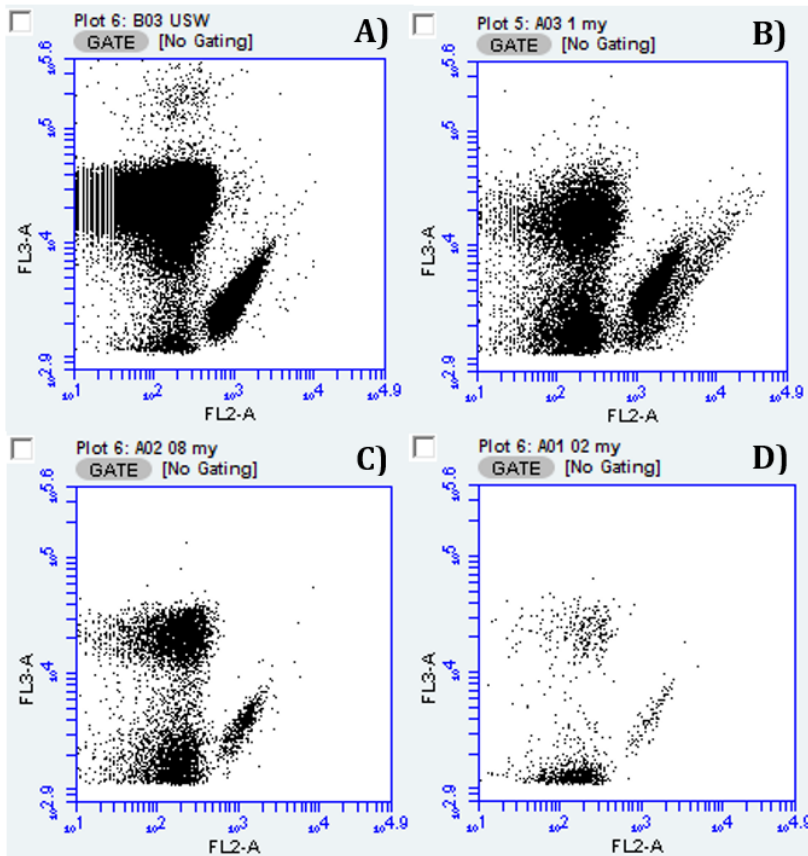
Det ble beregnet gjennomsnittlige konsentrasjoner og celledetthet fra og med dag 2 til og med dag 6 for mesokosme- og mikrokosmeforsøket. Gjennomsnittene ble brukt til regresjonsanalysene og parvise t-tester med 95 % signifikansnivå. I utgangspunktet var resultatene for hele tidsutviklingen av interesse, for å kunne inkludere dose-respons sammenhenger der ulike funksjonelle grupper viste ulik responstid før de begynte å vokse. Årsaken til at det ble nødvendig med ekskludering av dager var fordi fra dag 0 til 2 oppsto det problemer med gradientene og fra dag 6 ble over halvparten av mesokosmetankene ubrukelige. Disse dataene ble derfor umulig å bruke for senere dager.

Statistiske analyser og lineære regresjoner ble utført i SigmaPlot versjon 13.0. T-testene og regresjonene ble ansett som signifikante dersom  $p < 0,05$ . For å analysere om det var en effekt av kopepodebiomassen ble parvise t-tester utført. Analyse av glukosetilsetningene ble gjort ved regresjonsanalyser. Regresjonsanalysene testet om det var signifikante glukoseeffekter (stigningskoeffisienten, a) og om kopepodene hadde en signifikant beiteeffekt (skjæringspunktet, b) på de ulike komponentene.

## 4 Resultater

### 4.1 Filtrering for kartlegging av partikler i ulike størrelser

For å forsikre riktig triggering og gating ved bruk av FCM for fytoplankton-analysene ble det utført tre filtreringsforsøk, to ganger for mesokosme- og en gang for mikrokosmeforsøket. For hvert forsøk ble det samme prøvevolumet filtrert gjennom åtte ulike filterstørrelser, fra 10 til 0,2  $\mu\text{m}$ , og en prøve med ufiltrert sjøvann ble inkludert (*Figur 4.1, A*). Samtlige filtreringsforsøk viste at store mengder partikler i prøvematerialet var av en størrelse mellom 0,2 og 1,0  $\mu\text{m}$  (*Figur 4.1, B og C*), og en del mindre enn 0,2  $\mu\text{m}$  (*Figur 4.1, D*). Resultatene fra ufiltrert sjøvann og ned til 1,0  $\mu\text{m}$  filtrat var relativt like (data ikke vist). Filtreringsforsøket forsikret at både triggering og gating som ble brukt for analysering av fytoplankton for mesokosme- og mikrokosmeforsøkene inkluderte pikoplanktonet som var av interesse.



**Figur 4.1:** Tetthetsplott for filtreringsforsøket. Den samme mengden prøvemateriale ble filtrert gjennom alle åtte filtre, og trigget med grønn fluorescens (FL2) mot rød fluorescens (FL3). Figuren viser **A**) ufiltrert sjøvann; **B**) filterstørrelse 1,0  $\mu\text{m}$ ; **C**) filterstørrelse 0,8  $\mu\text{m}$ ; og **D**) filterstørrelse 0,2  $\mu\text{m}$ .

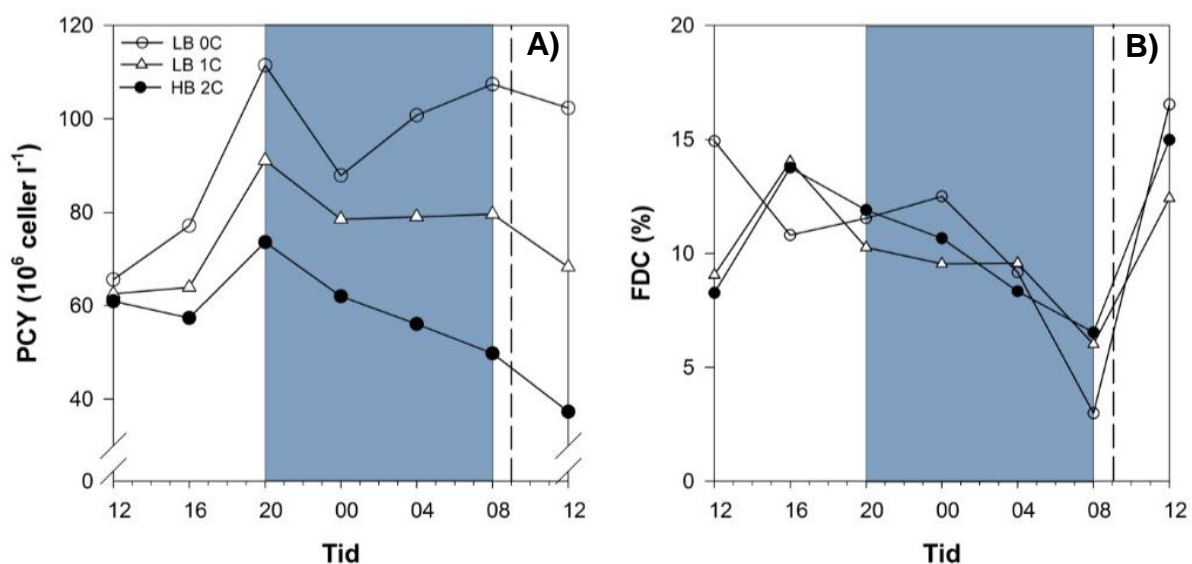


## 4.2 Døgnvariasjon for celledeling hos PCY

For å observere om celledelingen for PCY varierte over et døgn og forsikre riktig tidspunkt for prøvetaking til FDC ble det utført et døgnforsøk. Det ble også gjort en vurdering av døgntrender. Forsøket viste at det var variasjoner gjennom døgnet både for celletettheten og FDC for PCY. Veksten i tankene som ble undersøkt fulgte det samme mønsteret (Figur 4.2).

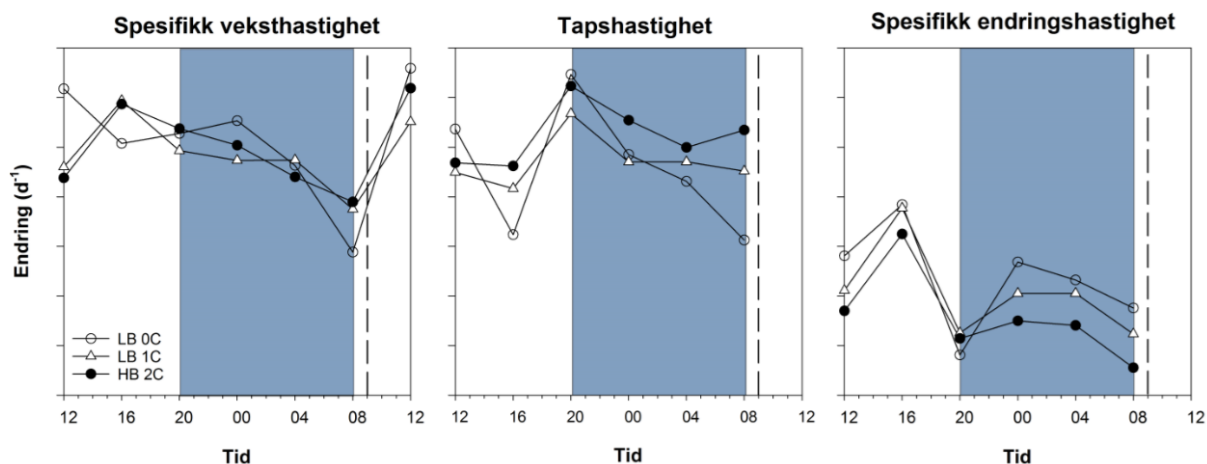
Celletettheten var høyest klokken 20:00 i alle tankene (Figur 4.2, A), der tanken med ingen tilsetning av glukose (0C) hadde høyest tetthet (data ikke vist). En døgngjennomsnittlig celletetthet varierte mellom  $52,5$  og  $99,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  (Tabell 4.1). Celletettheten klokken 09:00 er noe lavere enn døgngjennomsnittet, men det er ingen signifikante ulikheter (tosidig t-test  $p = 0,661$ ).

Høyest FDC ble observert fra midt på dagen og fram til det begynte å bli mørkt (fra rundt 12:00 til 20:00), med en FDC på mellom 10-16 % (Figur 4.2, B). Lavest FDC var fra midnatt og fram til det begynte å bli lyst (fra rundt 24:00 til 08:00), med en frekvens på  $<10$  %. Den spesifikke veksthastigheten ( $\mu_{FDC}$ ) ble beregnet basert på FDC. Gjennomsnittlig  $\mu_{FDC}$  lå på rundt  $0,60 d^{-1}$ , og viste en nedgang i perioden det var mørkt (rundt klokken 20:00), og en økning igjen når det ble lyst (rundt klokken 08:00). Tapet av celler var lavest omtrent midt på dagen (klokken 16:00, Figur 4.3). FDC klokken 09:00 var generelt litt lavere, men ikke signifikant forskjellig fra døgngjennomsnittet (tosidig t-test  $p = 0,283$ ).



**Figur 4.2:** Døgnvariasjoner presentert som **A)** celletetthet av PCY, og **B)** frekvensen av delende celler (FDC, %) hos PCY i tankene undersøkt. X-aksen er tidspunkt oppgitt som UTC/GMT+1. Det mørke feltet angir tid på døgnet det var mørkt, og den stiplede linjen representerer tidspunktet for prøvetaking klokken 09:00. Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

Døgntrendene for PCY fulgte det samme mønsteret i tankene som ble undersøkt (Figur 4.3), og resultatene for døgnforsøket viste at celledelingen for PCY varierte gjennom døgnet (Figur 4.2). Selv om både celledetthet og  $\mu_{PCY}$  var noe underestimert var resultatene tilfredsstillende, da ingen signifikante ulikheter ble påvist mellom døgngjennomsnittet og prøvetidspunkt.



**Figur 4.3:** Døgnvariasjoner av spesifikk veksthastighet ( $\mu$ ), tapshastighet ( $t$ ) og spesifikk endringshastighet ( $r$ ) hos PCY i tankene undersøkt med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). X-aksen er tidspunkt oppgitt som UTC/GMT+1. Det mørke feltet angir tid på døgnet det var mørkt, og den stiplede linjen representerer tidspunktet for prøvetaking klokken 09:00. Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

**Tabell 4.1:** Oversikt over døgngjennomsnitt ( $\pm SE$ ) for celledetthet og FDC for PCY i løpet av et døgn for tankene undersøkt. Spesifikk vekst ( $\mu_{FDC}$ )-, tap ( $t$ )- og endring ( $r$ ) er inkludert. Celledetthet og FDC ved prøvetidspunkt klokken 09:00 er beregnet som et gjennomsnitt mellom siste to punkt i Figur 10, A) og B), og markert med stiplet linje i samme figur. Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen tilsetning og 3C er høyest tilsetning av glukose.

	PCY ( $10^6$ celler $l^{-1}$ )	FDC (%)	$\mu_{FDC}$ ( $d^{-1}$ )	$t$ ( $d^{-1}$ )	$r$ ( $d^{-1}$ )	PCY ( $10^6$ celler $l^{-1}$ , 09:00)	FDC (%, 09:00)
LB 0C	$93,2 \pm 6,40$	$11,2 \pm 1,70$	$0,63 \pm 0,09$	$0,51 \pm 0,10$	$0,07 \pm 0,08$	104,9	9,8
LB 1C	$74,7 \pm 3,90$	$10,1 \pm 1,00$	$0,58 \pm 0,05$	$0,54 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,08$	74,0	9,2
HB 2C	$56,7 \pm 4,20$	$10,6 \pm 1,20$	$0,60 \pm 0,06$	$0,65 \pm 0,05$	$-0,08 \pm 0,07$	43,5	10,8

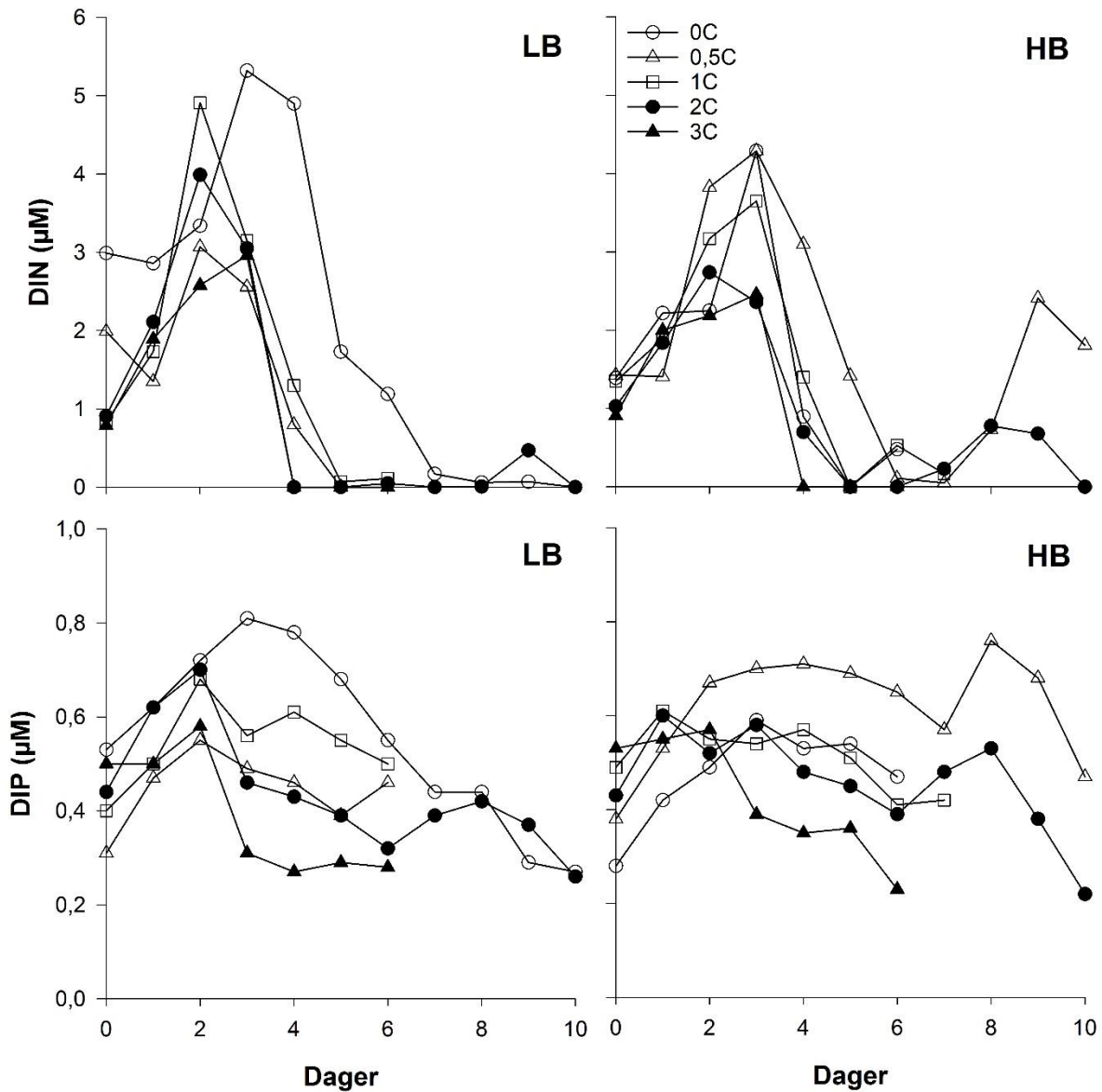
### 4.3 Mesokosmeforsøket

#### 4.3.1 Løste næringsalter (DIN og DIP)

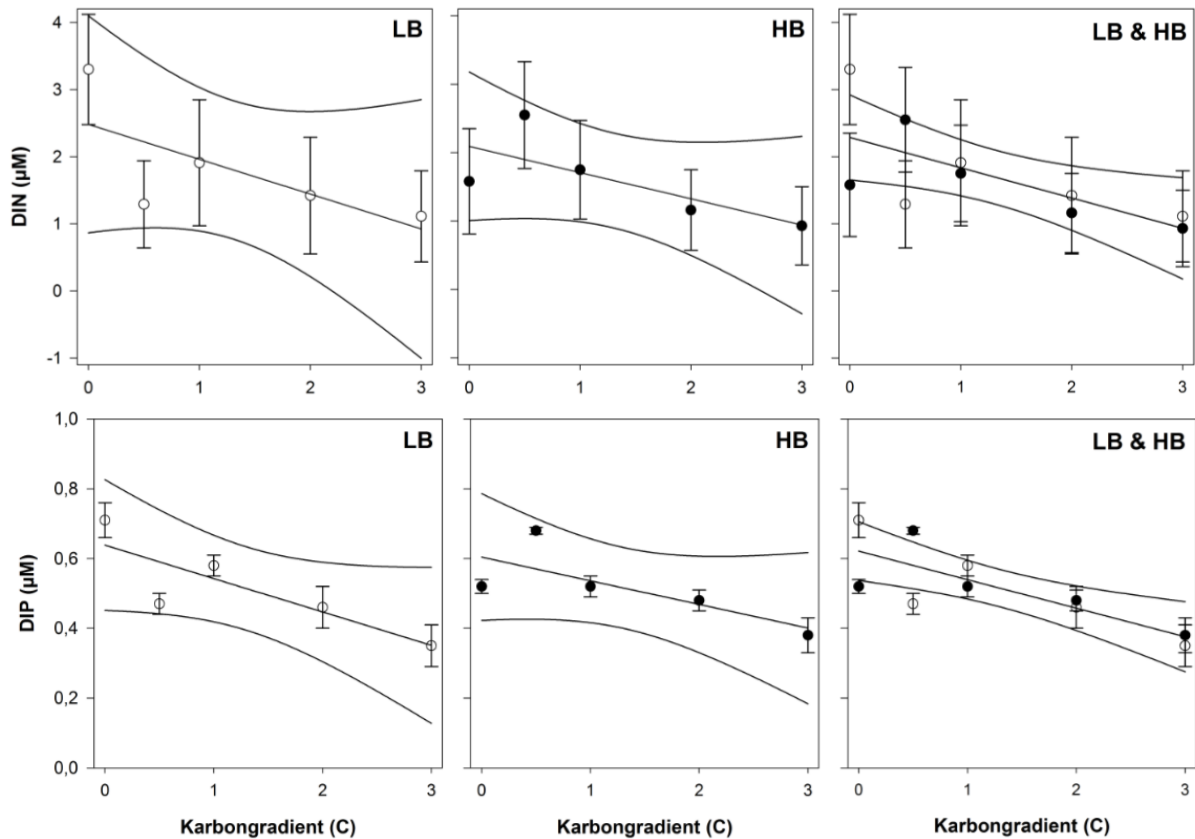
Konsentrasjonen av DIN varierte fra 0,00 til 5,32  $\mu\text{M}$  gjennom hele forsøket (*Figur 4.4*). Det er viktig å presisere at målinger for ammonium ikke var inkludert, og at DIN kun var basert på nitratmålinger. DIN akkumulerte i alle tanker i begynnelsen av forsøket. Tankene < 2C viste høyest konsentrasjon på dag 3 for både LB og HB (henholdsvis 5,32  $\mu\text{M}$  og 4,29  $\mu\text{M}$ ). Etter dag 3 ble nitraten raskt brukt opp i samtlige tanker, med unntak av 0C for LB (0,06  $\mu\text{M}$ ) og 0,5C for HB (0,05  $\mu\text{M}$ ). Konsentrasjonene forble lave ut forsøket for LB og HB, der noen tanker viste en tendens til økning på slutten av forsøket.

Konsentrasjonen av DIP varierte fra 0,22 til 0,81  $\mu\text{M}$  gjennom hele forsøket (*Figur 4.4*). Også DIP akkumulerte i begynnelsen av forsøket. Tankene med < 2C hadde høyest konsentrasjon på dag 3 i LB-tankene (0,81  $\mu\text{M}$ ) og på dag 8 i HB-tankene (0,76  $\mu\text{M}$ ). Etter dag 3 var det en svak nedgang for både LB og HB, men DIP ble aldri oppbrukt. På slutten av forsøket var det en tendens til økning i noen tanker.

Gjennomsnittlig konsentrasjon av DIN og DIP for dag 2 til dag 6 ble for DIN beregnet til 1,80 og 1,60  $\mu\text{M}$  for LB- og HB-tankene, og for DIP 0,52  $\mu\text{M}$  for begge. Høy kopepodebiomasse viste ingen signifikant effekt på konsentrasjonen av DIN og DIP (*Figur 4.5, Tabell 4.2*). Når LB- og HB-tankene ble analysert hver for seg var det ingen signifikant relasjon mellom økt glukosetilsats og konsentrasjon av DIN og DIP. Når tankene ble analysert samlet var glukoseeffekten negativ ( $R^2 = 0,49$  og  $p = 0,024$  for DIN,  $R^2 = 0,64$  og  $p = 0,005$  for DIP) (*Figur 4.5, Tabell 4.2*).



**Figur 4.4:** Tidsutviklingen for konsentrasjoner av løst uorganisk nitrogen ( $DIN; NO_3^-$ ) og løst uorganisk fosfor ( $DIP; PO_4^{3-}$ ) fra dag 0 til 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



**Figur 4.5:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) av løst uorganisk nitrogen (DIN) og fosfor (DIP) som en funksjon av glukosegradient (0, 0,5, 1, 2 og 3C) i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.2:** Lineær regresjon med gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for løst uorganisk nitrogen (DIN) og løst uorganisk fosfor (DIP) for mesokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

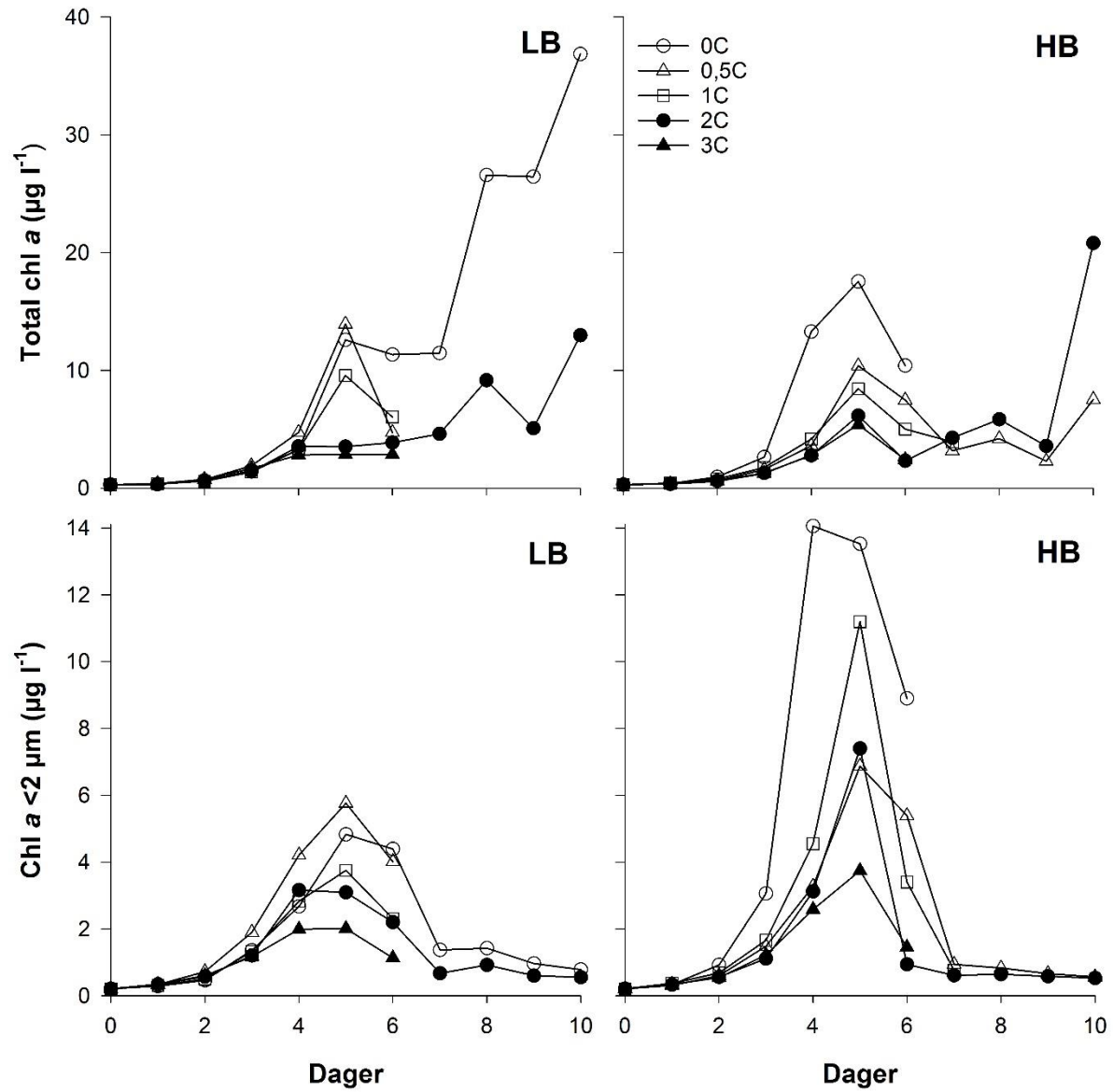
Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
DIN LB	$2,48 \pm 0,51$	0,017	$-0,52 \pm 0,30$	0,183	0,50	$p = 0,676$
DIN HB	$2,10 \pm 0,20$	0,009	$-0,38 \pm 0,20$	0,153	0,55	
DIP LB	$0,64 \pm 0,06$	0,002	$-0,10 \pm 0,03$	0,069	0,72	$p = 0,977$
DIP HB	$0,61 \pm 0,06$	0,002	$-0,07 \pm 0,03$	0,140	0,57	
DIN LB&HB	$2,29 \pm 0,27$	<0,0001	$-0,45 \pm 0,16$	0,024	0,49	
DIP LB&HB	$0,62 \pm 0,04$	<0,0001	$-0,08 \pm 0,02$	0,005	0,64	

### 4.3.2 Klorofyll *a* (total chl *a* og chl *a* < 2 µm)

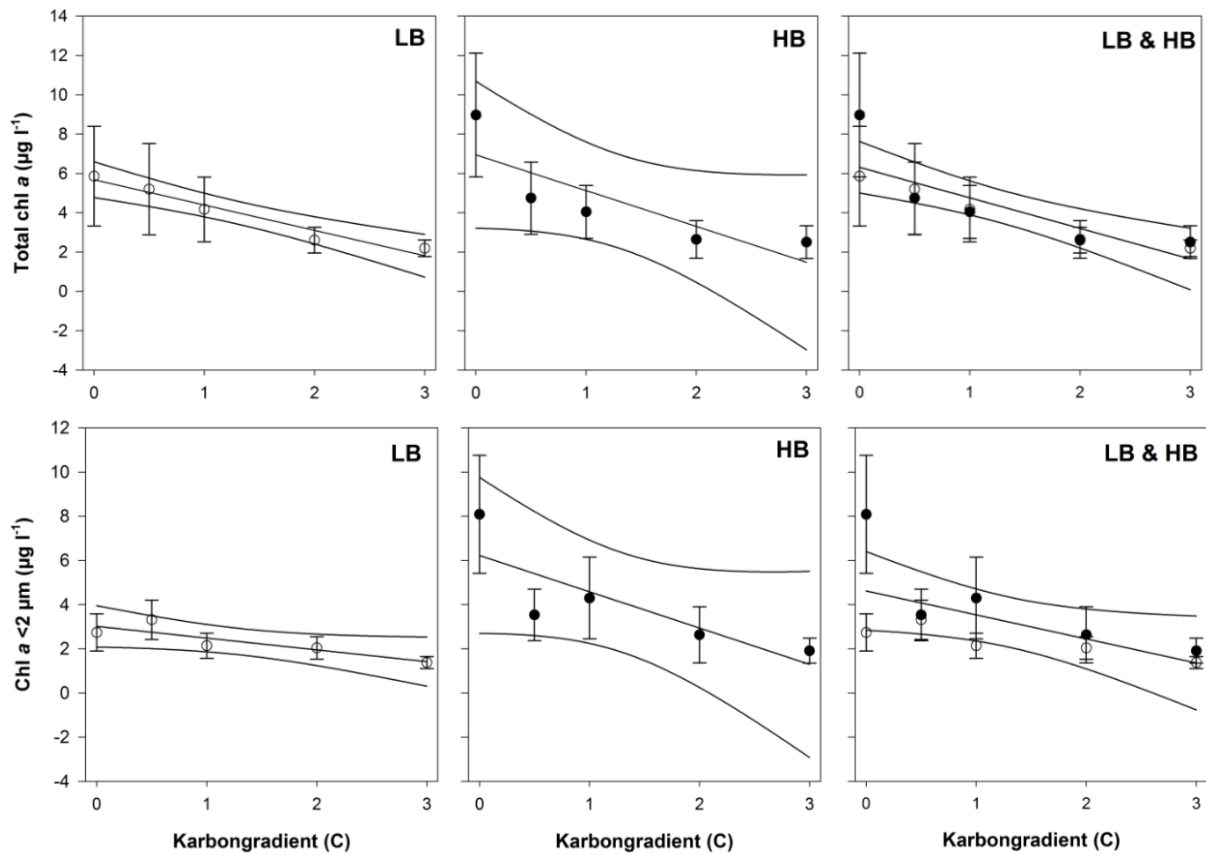
Klorofyll *a* (chl *a*) responderte etter dag 3 og 4, og det viste seg at konsentrasjonen økte med minkende glukosegradient (*Figur 4.6*). Tidsforløpet fra dag 0 til 10 viste at total chl *a* hadde en varierende utvikling i LB- og HB-tankene (fra 0,30 til henholdsvis 36,9 og 20,8 µg chl *a* l<sup>-1</sup>). I første halvdel av forsøket dominerte størrelsesfraksjonen < 2 µm, og fra dag 5 og ut forsøket gikk det mot en dominans av fraksjonen > 20 µm (data ikke vist). Både LB (tankene < 2C) og HB (alle tankene) viste en topp på dag 5 (konsentrasjoner mellom 9,57 og 13,9 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for LB, og mellom 5,40 og 17,55 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for HB). Det ble også observert en maksimumstetthet på dag 10 i 0C for LB (36,9 µg chl *a* l<sup>-1</sup>) og 2C for HB (20,8 µg chl *a* l<sup>-1</sup>).

Chl *a* < 2 µm viste respons på dag 3 i både LB- og HB-tankene (*Figur 4.6*). Tidsforløpet fra dag 0 til 10 viste at chl *a* < 2 µm hadde en varierende utvikling (fra 0,21 til henholdsvis 5,76 og 14,1 µg chl *a* l<sup>-1</sup>). Både LB og HB viste en maksimal konsentrasjon på dag 5 i nesten samtlige tanker, spesielt i tankene < 2C. Etter dag 5 gikk konsentrasjonene noe ned og forble lave ut forsøket. Chl *a* < 2 µm viste seg å være mer dominerende med minkende glukosetilsetning, og konsentrasjonen var betydelig høyere i HB enn LB. Prosentandelen chl *a* < 2 µm av total chl *a* var høyere i HB enn LB (parvis t-test  $p = 0,05$ ) med gjennomsnittlig prosent fra dag 2 til dag 6 på  $72,8 \pm 3,83$  % for LB og  $89,8 \pm 3,22$  % for HB.

Gjennomsnittlig konsentrasjon for dag 2 til dag 6 ble for total chl *a* beregnet til 4,01 og 4,58 µg l<sup>-1</sup> og for chl *a* < 2 µm 2,33 og 4,09 µg l<sup>-1</sup> for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på konsentrasjonen av chl *a* (*Figur 4.7*). Total chl *a* var i gjennomsnittet høyere i HB enn LB, og chl *a* < 2 µm var i gjennomsnittet dobbelt så høyt i HB enn LB. Likevel var det ingen signifikant ulikhet mellom tankene (*Tabell 4.3*). Konsentrasjonen av chl *a* minket med økende glukosetilsats i LB-tankene, både total chl *a* ( $R^2 = 0,95$  og  $p = 0,005$ ) og chl *a* < 2 µm ( $R^2 = 0,76$  og  $p = 0,055$ ) når tankene ble analysert hver for seg. Når tankene ble analysert samlet var glukoseeffekten negativ ( $R^2 = 0,73$  og  $p = 0,002$  for total chl *a*,  $R^2 = 0,41$  og  $p = 0,045$  for chl *a* < 2µm) (*Figur 4.7, Tabell 4.3*).



**Figur 4.6:** Tidsutviklingen for konsentrasjoner av total klorofyll a og klorofyll a < 2μm fra dag 0 til 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



**Figur 4.7:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$  SE) av total klorofyll a og klorofyll a < 2 $\mu$ m som en funksjon av glukosegradient (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.3:** Lineær regresjon med gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til 6 for total klorofyll a og klorofyll a < 2 $\mu$ m for mesokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over R<sup>2</sup>-verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

Regresjonn	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		R <sup>2</sup>	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
Total chl a LB	5,68 $\pm$ 0,29	0,0003	-1,29 $\pm$ 0,17	0,005	0,95	p = 0,813*
Total chl a HB	6,95 $\pm$ 1,18	0,010	-1,82 $\pm$ 0,70	0,079	0,70	
Chl a < 2 $\mu$ m LB	3,02 $\pm$ 0,29	0,002	-0,53 $\pm$ 0,17	0,055	0,76	p = 0,139
Chl a < 2 $\mu$ m HB	6,23 $\pm$ 1,11	0,011	-1,65 $\pm$ 0,66	0,088	0,68	
Total chl a LB&HB	6,31 $\pm$ 0,57	<0,0001	-1,56 $\pm$ 0,34	0,002	0,73	
Chl a < 2 $\mu$ m LB&HB	4,62 $\pm$ 0,77	0,0003	-1,09 $\pm$ 0,46	0,045	0,41	

\* Parvis t-test feilet da Shapiro-Wilks normalitetstest feilet. Gjort som Wilcoxon signed rank test.

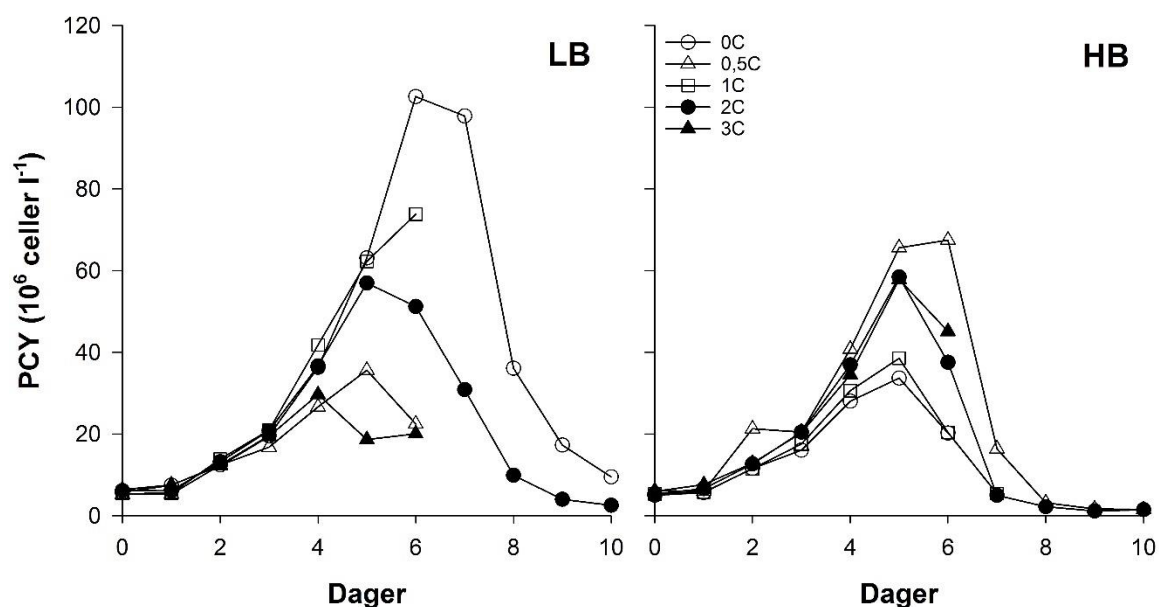


### 4.3.3 Pikoplankton

#### *Piko-autotrofe cyanobakterier (PCY)*

Prosentandelen av *Synechococcus* av den totale mengden fytoplankton fra prøvene telt på FCM var i gjennomsnitt 13 % for LB, og 11 % for HB (data ikke vist). PCY brukte tid på å respondere, og på dag 2 var det en svak tendens til økning og en høyere økning på dag 4 i både LB- og HB-tankene. Tidsforløpet fra dag 0 til 10 viste en lik trend for LB og HB (Figur 4.8). For hele forsøket varierte celledettheten mellom  $2,55$  og  $102,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $1,18$  og  $67,5 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for HB. Det var tankene  $< 2C$  som viste tendens til høyest tetthet, med et maksimum på dag 6 i både LB- og HB-tankene (tetthet mellom  $67,5$  og  $102,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ). Etter dag 6 gikk tettheten ned i samtlige tanker, og forble lave ut forsøket.

Gjennomsnittlig celledetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $33,6$  og  $31,2 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på tettheten av PCY (Figur 4.12). Selv om LB viste en betydelig større variasjon og noe større celledetthet enn HB, var skjæringspunktene tilnærmet like og en parvis t-test viste ingen signifikante ulikheter (Tabell 4.4). Det var ingen signifikant relasjon mellom økt glukosetilsats og celledetthet av PCY, hverken når LB- og HB-tankene ble analysert hver for seg eller når analysert samlet (Figur 4.12, Tabell 4.4).

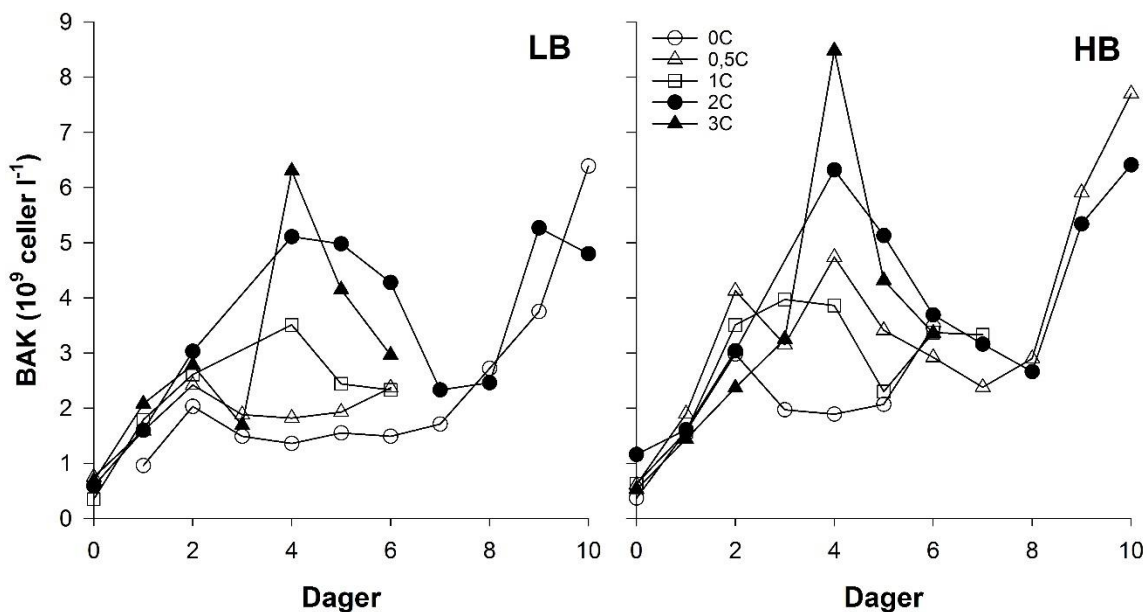


**Figur 4.8:** Tidsutviklingen for celledetthet av pikocyanobakterier (PCY) fra dag 0 til 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

*Piko-heterotrofe bakterier (BAK)*

BAK responderte ganske tidlig i forsøket, med en økning allerede på dag 1 for både LB- og HB-tankene. Tidsforløpet fra dag 0 til 10 viste en lik trend for LB og HB (Figur 4.9). For hele forsøket varierte celletettheten mellom  $0,40$  og  $6,40 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $0,37$  og  $8,48 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for HB. Tankene  $\geq 2C$  viste høyest tetthet og hadde et maksimum på dag 4 for både LB og HB (tetthet mellom  $5,11$  og  $8,48 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ ). På samme dag hadde tankene  $< 2C$  en tetthet mellom  $1,36$  til  $4,74 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ . Fra dag 4 til 8 gikk tettheten betydelig ned i  $\geq 2C$  tankene og en slak nedgang i  $< 2C$  tankene. Fra dag 8 og ut forsøket var det en økning, og på slutten av forsøket (dag 10) var det en ny topp med en tetthet mellom  $4,80$  og  $7,70 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ .

Gjennomsnittlig celletetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $2,83$  og  $3,70 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste signifikant effekt på tettheten av BAK (Figur 4.12). Skjæringspunktene var noe ulike og HB-tankene viste en høyere gjennomsnittlig celletetthet av BAK (parvis t-test  $p = 0,02$ , Tabell 4.4), som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene. Det var ingen signifikant relasjon mellom glukosegradienten og tettheten av BAK, når LB- og HB-tankene ble analysert hver for seg. Når tankene ble analysert samlet var det en positiv glukoseeffekt ( $R^2 = 0,58$  og  $p = 0,010$ ) (Figur 4.12, Tabell 4.4).



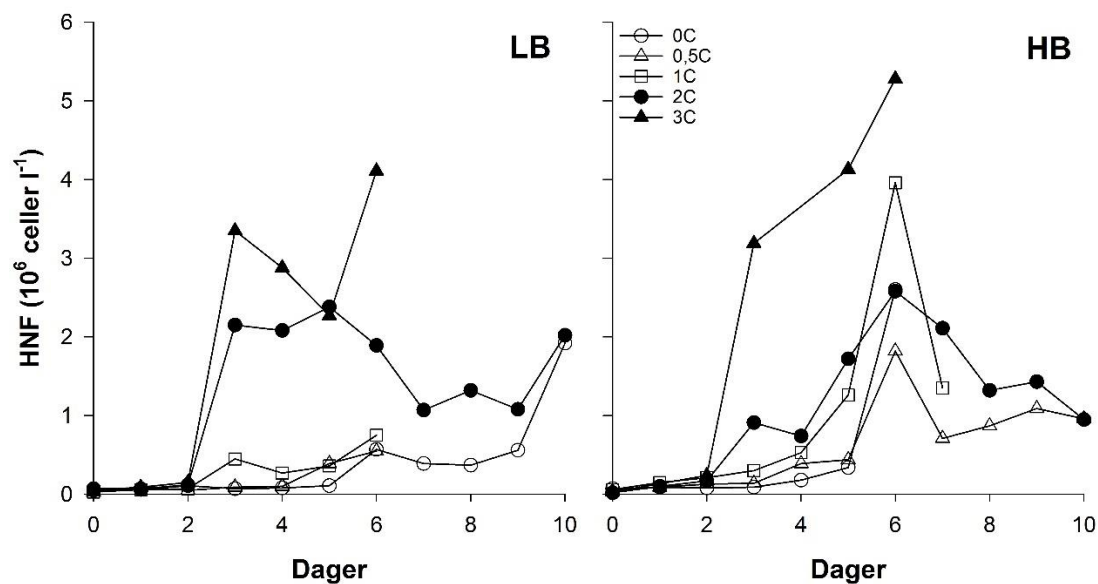
**Figur 4.9:** Tidsutviklingen for celletetthet av heterotrofe bakterier (BAK) fra dag 0 til 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

#### 4.3.4 Predatorer

##### *Heterotrofe nanoflagellater (HNF)*

HNF responderte tidlig i forsøket, med en kraftig økning på dag 2 i noen av tankene. Tidsforløpet fra dag 0 til 10 viste en ulik utvikling for LB- og HB-tankene (Figur 4.10). For hele forsøket varierte celletettheten mellom  $0,03$  og  $4,11 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $0,02$  og  $5,28 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for HB. Tankene med  $\geq 2C$  viste høy tetthet. For både LB og HB viste 3C tanken høyest tetthet og hadde et maksimum på dag 6 (henholdsvis  $4,11$  og  $5,28 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ). For LB viste det seg at  $\geq 2C$  tankene (gjennomsnitt mellom  $1,30$  og  $1,80 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ) jevnt over hele forsøket hadde en mye høyere tetthet enn  $< 2C$  tankene (gjennomsnitt mellom  $0,20$  og  $0,40 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ). For HB hadde samtlige tanker et maksimum på dag 6, med en etterfølgende reduksjon i tettheten. 3C tanken (gjennomsnitt  $2,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ) skilte seg ut fra de øvrige tankene (gjennomsnitt mellom  $0,5$  og  $1,1 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ).

Gjennomsnittlig celletetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $1,02$  og  $1,40 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på tettheten av HNF (Figur 4.12). HB viste en høyere tetthet enn LB, men en parvis t-test viste ingen signifikant ulikhet (Tabell 4.4). En økende glukosetilsats førte til økende tetthet av HNF for HB ( $R^2 = 0,81$  og  $p = 0,037$ ), og på grensen til signifikant effekt for LB, når tankene ble analysert hver for seg. Når tankene ble analysert samlet økte tettheten av HNF med økende glukosetilsats ( $R^2 = 0,84$  og  $p = 0,0002$ ) (Figur 4.12, Tabell 4.4).

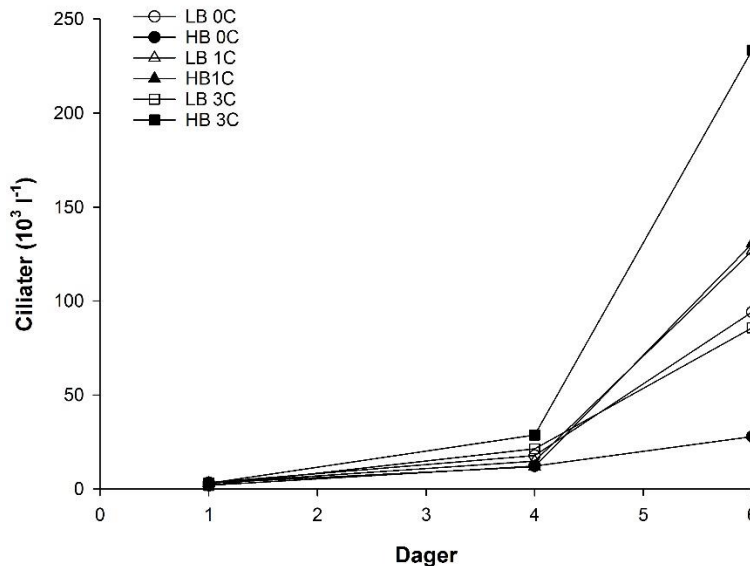


**Figur 4.10:** Tidsutviklingen for celletetthet av heterotrofe nanoflagellater (HNF) fra dag 0 til 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

### Ciliater

På bakgrunn av få datapunkter for CIL, var det utfordrende å si noe sikkert hvordan de påvirket de andre gruppene. Det gikk noen dager før det ble observert respons, og å dag 4 ble det observert en rask økning i celletetthet (*Figur 4.11*). Samtlige tanker viste en positiv utvikling, og det var HB-tankene med 3C som viste høyest tetthet ( $233,5 * 10^3 l^{-1}$ ). Samtlige tanker hadde maksimumtetthet på slutten (dag 6).

Den dominerende størrelsen CIL var de små ( $20-40 \mu M ESD^1$ ) og LB-tankene hadde en høyere andel små CIL sammenlignet med HB-tankene (gjennomsnitt 80 % for LB og 71 % for HB). Til gjengjeld hadde HB-tankene en noe større andel av middelsstore ( $40-60 \mu M ESD$ ) og store CIL ( $>60 \mu M ESD$ ) sammenlignet med LB-tankene (gjennomsnitt 17 og 2 % for LB og 25 og 4 % for HB).

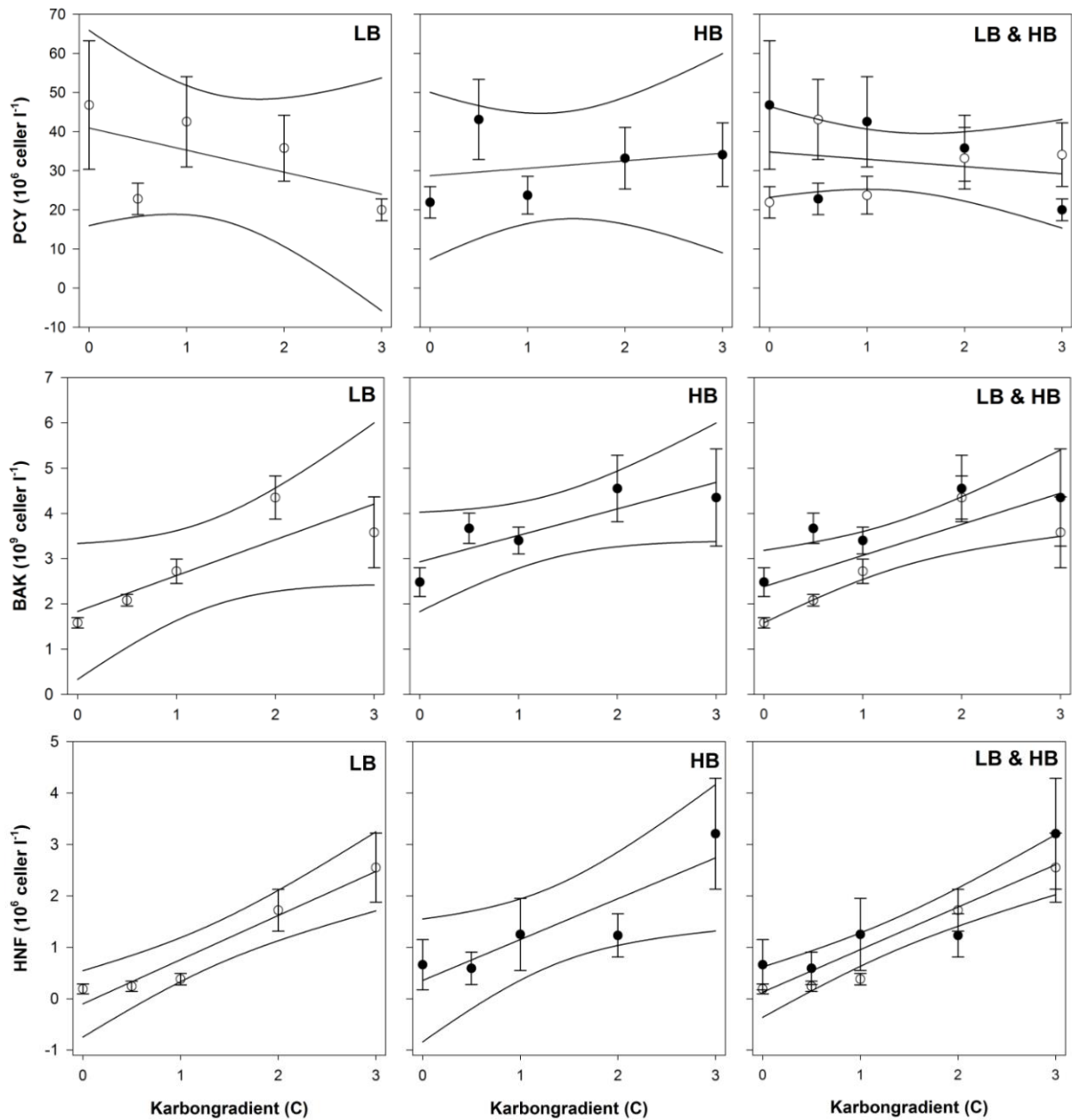


**Figur 4.11:** Tidsutviklingen for celletetthet av ciliater fra dag 1 til 6 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

### Kopepoder

Det ble ikke observert stor forskjell i tetthet og biomasse av kopepoder mellom LB- og HB-tankene under forsøket. Celletettheten var i gjennomsnitt  $164 \text{ individer } l^{-1}$  for LB og for  $146 \text{ individer } l^{-1}$  for HB og biomassen var i gjennomsnitt  $61,8 \mu g C l^{-1}$  for LB og  $79,8 \mu g C l^{-1}$  for HB (data ikke vist). Kopepodene som var dominerende i både LB- og HB-tankene var artene *Paracalanus parvus* og *Oithona similis*.

<sup>1</sup> ESD = ekvivalent sfærisk diameter.



**Figur 4.12:** Gjennomsnittlig celledetthet ( $\pm$  SE) for de ulike funksjonelle gruppene (PCY, BAK og HNF) som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.4:** Lineær regresjon med gjennomsnittlig celletetthet ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for PCY, BAK og HNF for mesokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

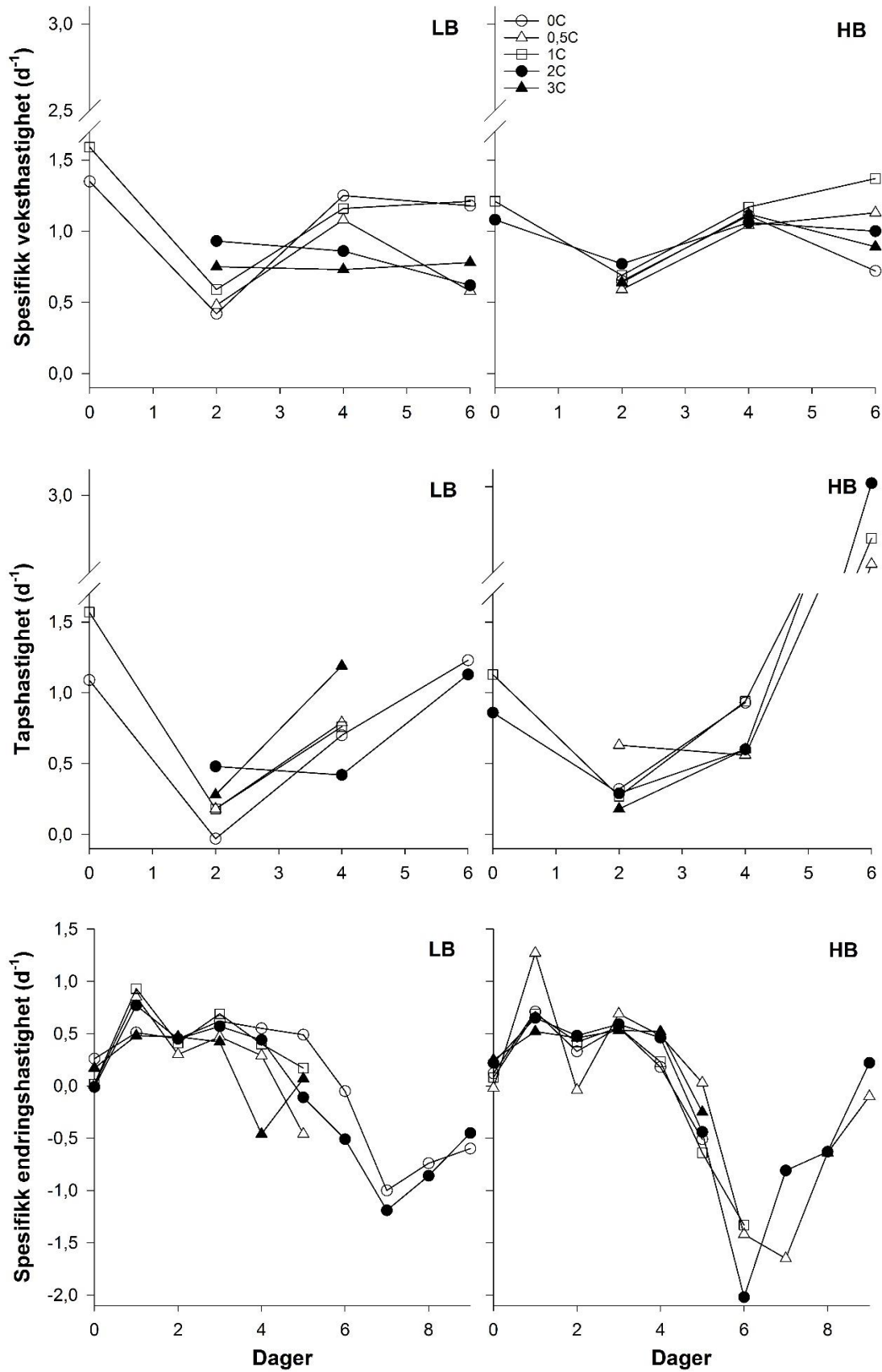
Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
PCY LB	40,9 $\pm$ 7,8	0,014	-5,65 $\pm$ 4,6	0,311	0,33	p = 0,802
PCY HB	28,7 $\pm$ 6,7	0,024	1,93 $\pm$ 4,0	0,661	0,07	
BAK LB	1,83 $\pm$ 0,5	0,030	0,79 $\pm$ 0,2	0,066	0,72	p = 0,021
BAK HB	2,93 $\pm$ 0,3	0,004	0,59 $\pm$ 0,2	0,065	0,73	
HNF LB	-0,11 $\pm$ 0,2	0,651	0,86 $\pm$ 0,1	0,056	0,95	p = 0,185
HNF HB	0,35 $\pm$ 0,4	0,416	0,80 $\pm$ 0,2	0,037	0,81	
PCY LB&HB	34,8 $\pm$ 5,1	0,0001	-1,86 $\pm$ 3,0	0,551	0,05	
BAK LB&HB	2,38 $\pm$ 0,4	0,0001	0,69 $\pm$ 0,2	0,010	0,58	
HNF LB&HB	0,13 $\pm$ 0,2	0,569	0,83 $\pm$ 0,1	0,0002	0,84	

#### 4.3.5 Spesifikk vekst ( $\mu$ )-, tap ( $t$ )- og endringshastighet ( $r$ )

##### *Piko-autotrofe cyanobakterier (PCY)*

Vekstraten for PCY viste ingen store variasjoner (gjennomsnittlig  $\mu$  mellom 0,80 og 0,99  $d^{-1}$ ). Tidsutviklingen fra dag 0 til 10 viste generelt at vekstraten var lik i LB- og HB-tankene, og at tapsraten økte med tid i gjennomsnitt mellom 0,64 og 1,12  $d^{-1}$  (*Figur 4.13*). Halvveis i forsøket ble endringsraten negativ, som betyr at tapsraten var høyere enn vekstraten.

Gjennomsnittlig vekst, tap og endring for dag 2 til dag 6 i LB- og HB-tankene ble beregnet til henholdsvis 0,84 og 0,93  $d^{-1}$  for  $\mu$ , 0,60 og 0,97  $d^{-1}$  for  $t$  og 0,25 og 0,001  $d^{-1}$  for  $r$ . For LB var vekstraten høyere enn tapsraten, noe som betyr en positiv endringsrate. For HB var vekst- og tapsratene tilnærmet like, derav en endringsrate lik 0. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på  $\mu$ ,  $t$  og  $r$  for tettheten av PCY (*Figur 4.15*). Både  $\mu$  og  $t$  var i gjennomsnitt høyere for HB enn LB, men parvise t-tester viste ingen signifikant ulikhet mellom tankene (*Tabell 4.5*). Det var ingen signifikant relasjon mellom glukosegradienten og hastigheten for vekst, tap og endring hos PCY, hverken når LB- og HB-tankene ble analysert hver for seg eller når analysert samlet (*Figur 4.15, Tabell 4.5*).



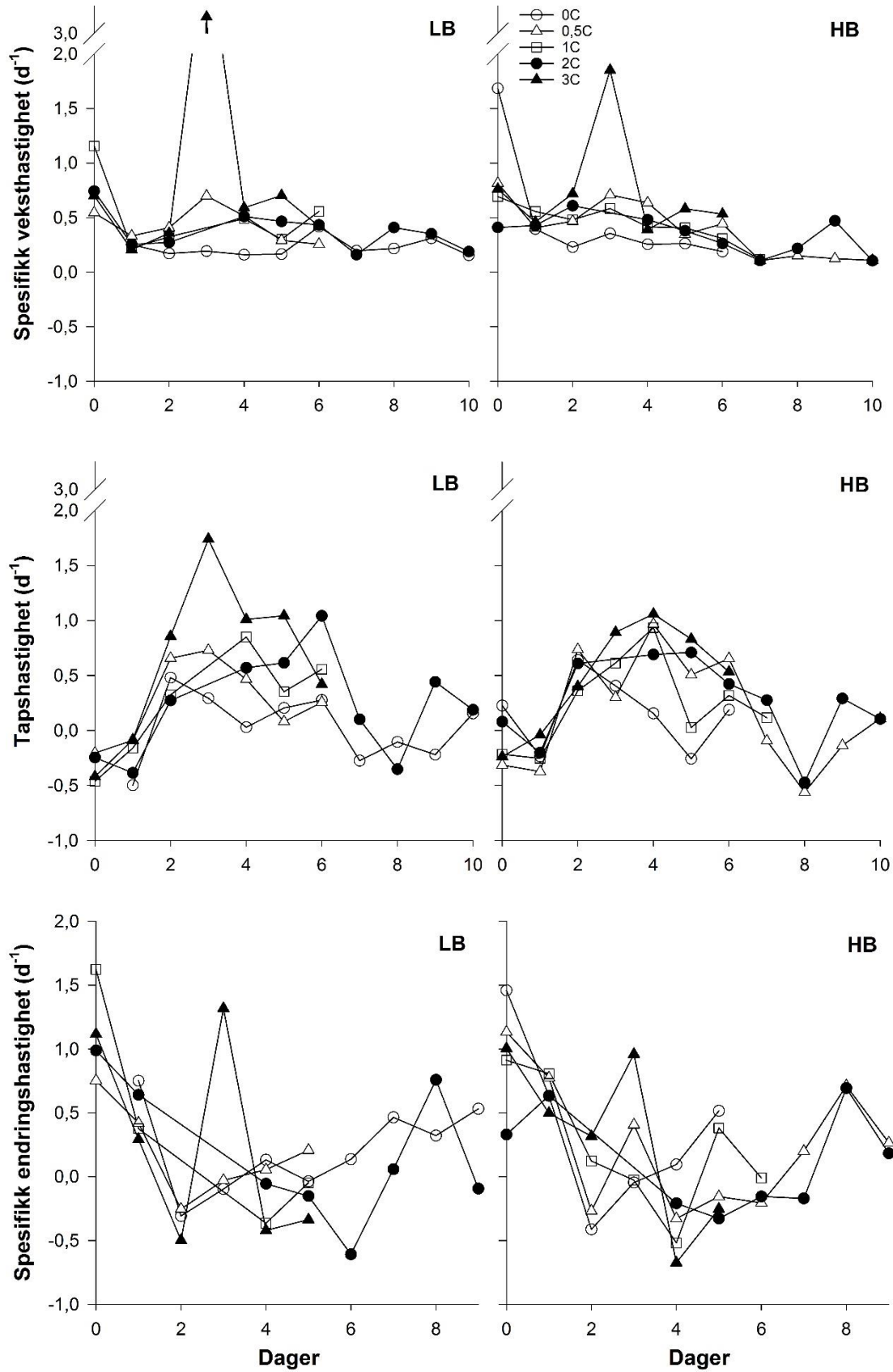
**Figur 4.13:** Tidsutviklingen for hastigheten ( $d^{-1}$ ) av spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for PCY fra dag 0 til 6 og 9 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



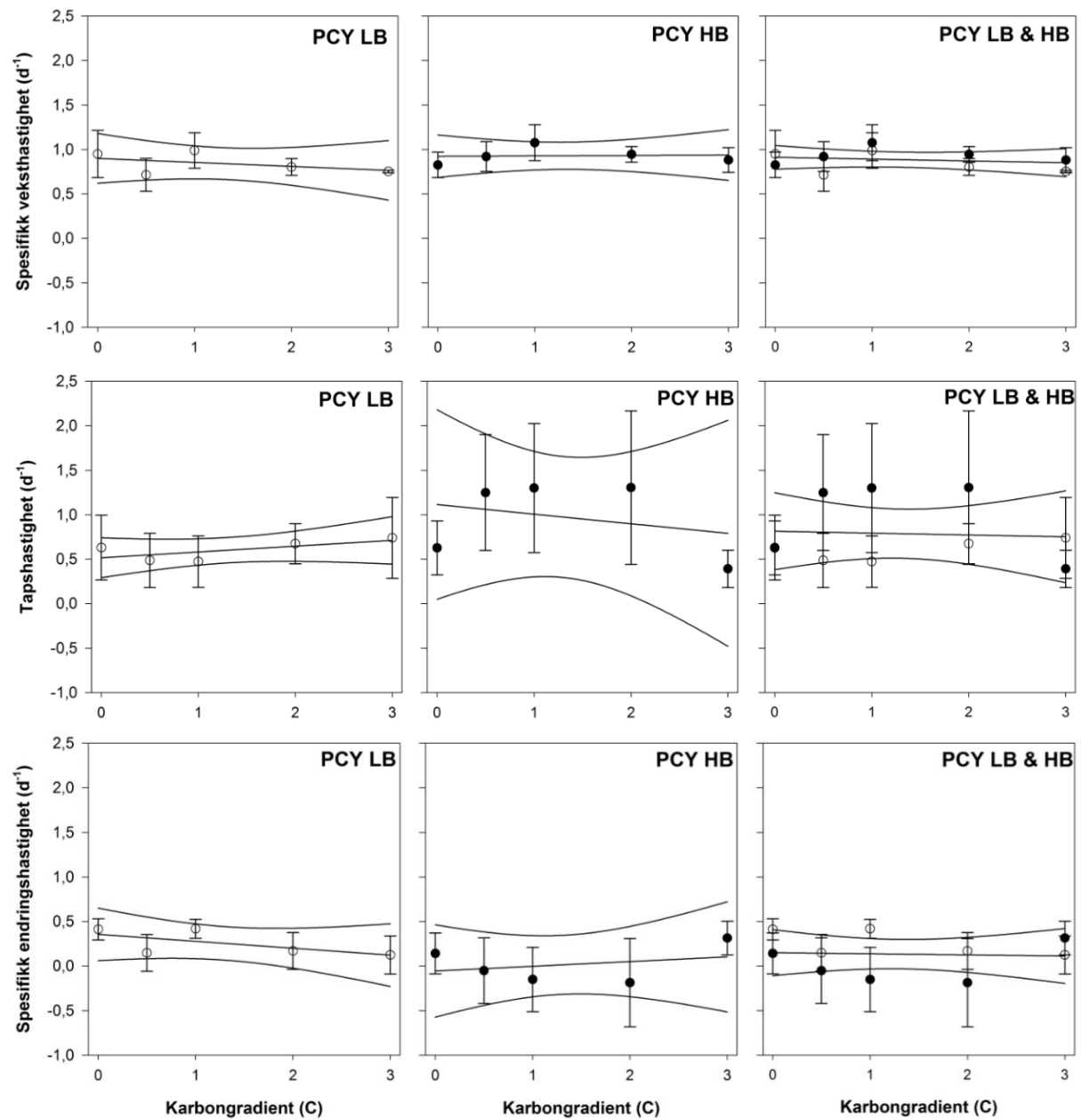
### *Piko-heterotrofe bakterier (BAK)*

Vekstraten for BAK viste ingen store variasjoner (gjennomsnittlig  $\mu$  mellom 0,37 til 0,55  $d^{-1}$ ). Tidsutviklingen fra dag 0 til 10 viste at vekstraten var lik i LB- og HB-tankene, og tapsraten hadde en del svingninger med antydning til redusert tap med tid (gjennomsnitt fra 0,21 til 0,38  $d^{-1}$ ) (*Figur 4.14*). På dag 3 hadde tanken med 3C en kraftig økning i  $\mu$  i både for LB og HB, som ble gjenspeilt i r, og der t var noe høyere i LB sammenlignet med HB.

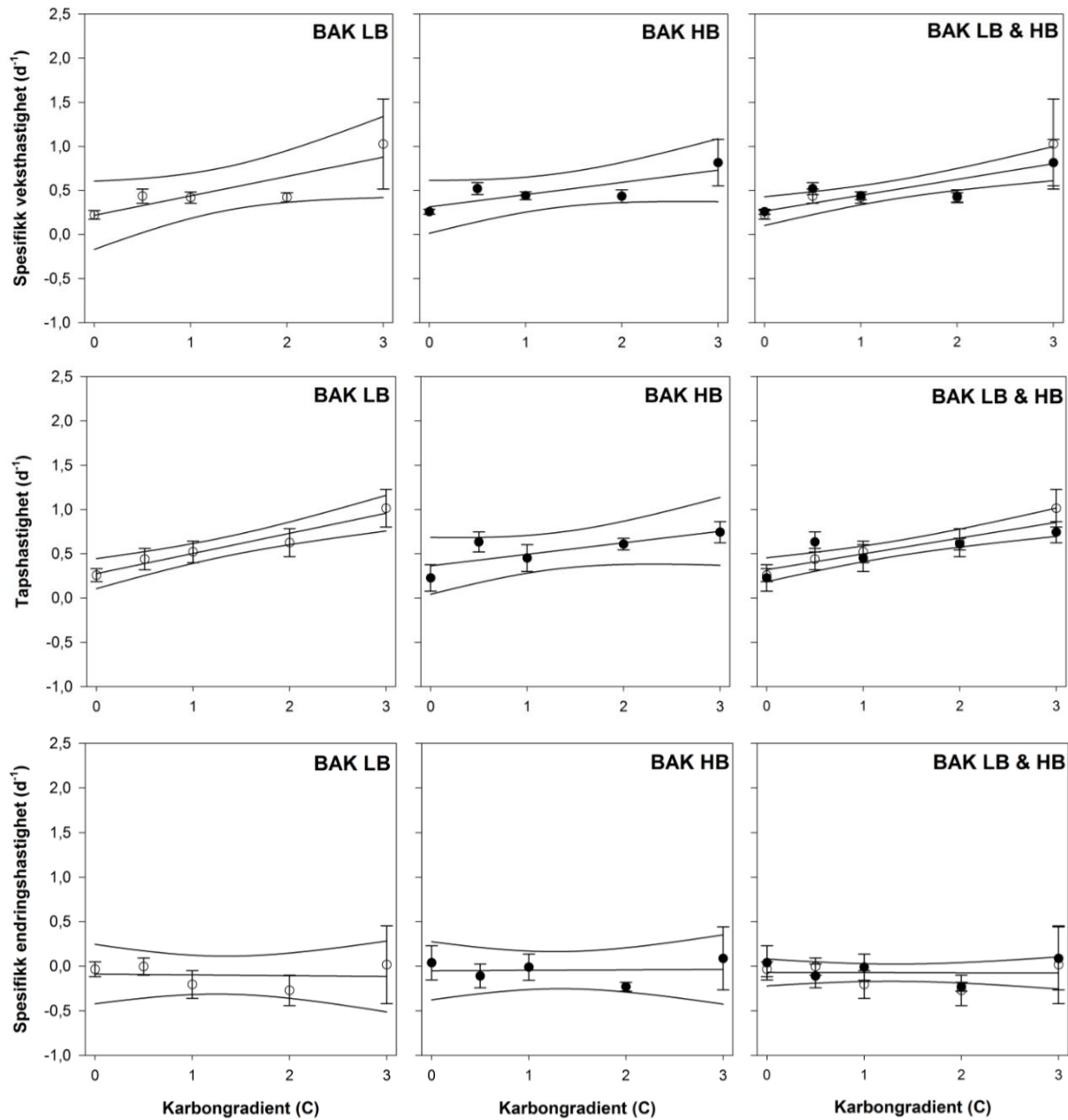
Gjennomsnittlig vekst, tap og endring for dag 2 til dag 6 i LB- og HB-tankene ble beregnet til henholdsvis 0,50 og 0,49  $d^{-1}$  for  $\mu$ , 0,57 og 0,53  $d^{-1}$  for t og -0,10 og -0,05  $d^{-1}$  for r. For LB var tapsraten høyere enn vekstraten, noe som betyr en negativ endringsrate. For HB var vekst- og tapsraten tilnærmet like, derav en endringsrate lik 0. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på  $\mu$ , t og r for tettheten av BAK (*Figur 4.16*). Både  $\mu$  og t var noe høyere i LB enn HB, men parvise t-tester viste ingen signifikant ulikhet mellom tankene (*Tabell 4.6*). Tapsraten økte med økt glukosetilsats i LB når tankene ble analysert hver for seg ( $R^2 = 0,94$  og  $p = 0,006$ ). Når tankene ble analysert samlet var glukoseeffekten positiv for  $\mu$  ( $R^2 = 0,70$  og  $p = 0,003$ ) og for t ( $R^2 = 0,77$  og  $p = 0,001$ ) (*Figur 4.16, Tabell 4.6*).



**Figur 4.14:** Tidsutviklingen for hastigheten ( $d^{-1}$ ) av spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for BAK fra dag 0 til 9 og 10 for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



**Figur 4.15:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for PCY som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.



**Figur 4.16:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for BAK som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mesokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.5:** Lineær regresjon med gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for PCY for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for mesokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
PCY LB $\mu$	0,90 $\pm$ 0,09	0,002	-0,04 $\pm$ 0,05	0,455	0,20	p = 0,191
PCY HB $\mu$	0,92 $\pm$ 0,08	0,001	0,004 $\pm$ 0,04	0,927	0,003	
PCY LB $t$	0,52 $\pm$ 0,07	0,005	0,07 $\pm$ 0,04	0,216	0,45	p = 0,184
PCY HB $t$	1,11 $\pm$ 0,34	0,045	-0,11 $\pm$ 0,19	0,652	0,09	
PCY LB $r$	0,36 $\pm$ 0,09	0,031	-0,08 $\pm$ 0,05	0,251	0,40	p = 0,124
PCY HB $r$	-0,06 $\pm$ 0,16	0,753	0,05 $\pm$ 0,09	0,621	0,09	
LB&HB $\mu$	0,91 $\pm$ 0,06	<0,0001	-0,20 $\pm$ 0,03	0,573	0,04	
LB&HB $t$	0,81 $\pm$ 0,18	0,003	-0,02 $\pm$ 0,11	0,854	0,005	
LB&HB $r$	0,15 $\pm$ 0,11	0,218	-0,01 $\pm$ 0,06	0,856	0,004	

**Tabell 4.6:** Lineær regresjon med gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for BAK for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for mesokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
BAK LB $\mu$	0,23 $\pm$ 0,12	0,160	0,22 $\pm$ 0,07	0,060	0,74	p = 0,625*
BAK HB $\mu$	0,32 $\pm$ 0,10	0,045	0,13 $\pm$ 0,06	0,100	0,65	
BAK LB $t$	0,28 $\pm$ 0,06	0,015	0,22 $\pm$ 0,03	0,006	0,94	p = 0,626
BAK HB $t$	0,37 $\pm$ 0,10	0,037	0,13 $\pm$ 0,06	0,119	0,61	
BAK LB $r$	-0,09 $\pm$ 0,10	0,460	-0,01 $\pm$ 0,06	0,895	0,01	p = 0,315
BAK HB $r$	-0,05 $\pm$ 0,10	0,649	0,005 $\pm$ 0,06	0,941	0,003	
LB&HB $\mu$	0,26 $\pm$ 0,07	0,006	0,18 $\pm$ 0,04	0,003	0,70	
LB&HB $t$	0,32 $\pm$ 0,06	0,001	0,18 $\pm$ 0,03	0,001	0,77	
LB&HB $r$	-0,07 $\pm$ 0,07	0,314	-0,002 $\pm$ 0,04	0,959	0,0004	

\* Parvis t-test feilet da Shapiro-Wilks normalitetstest feilet. Gjort som Wilcoxon signed rank test.



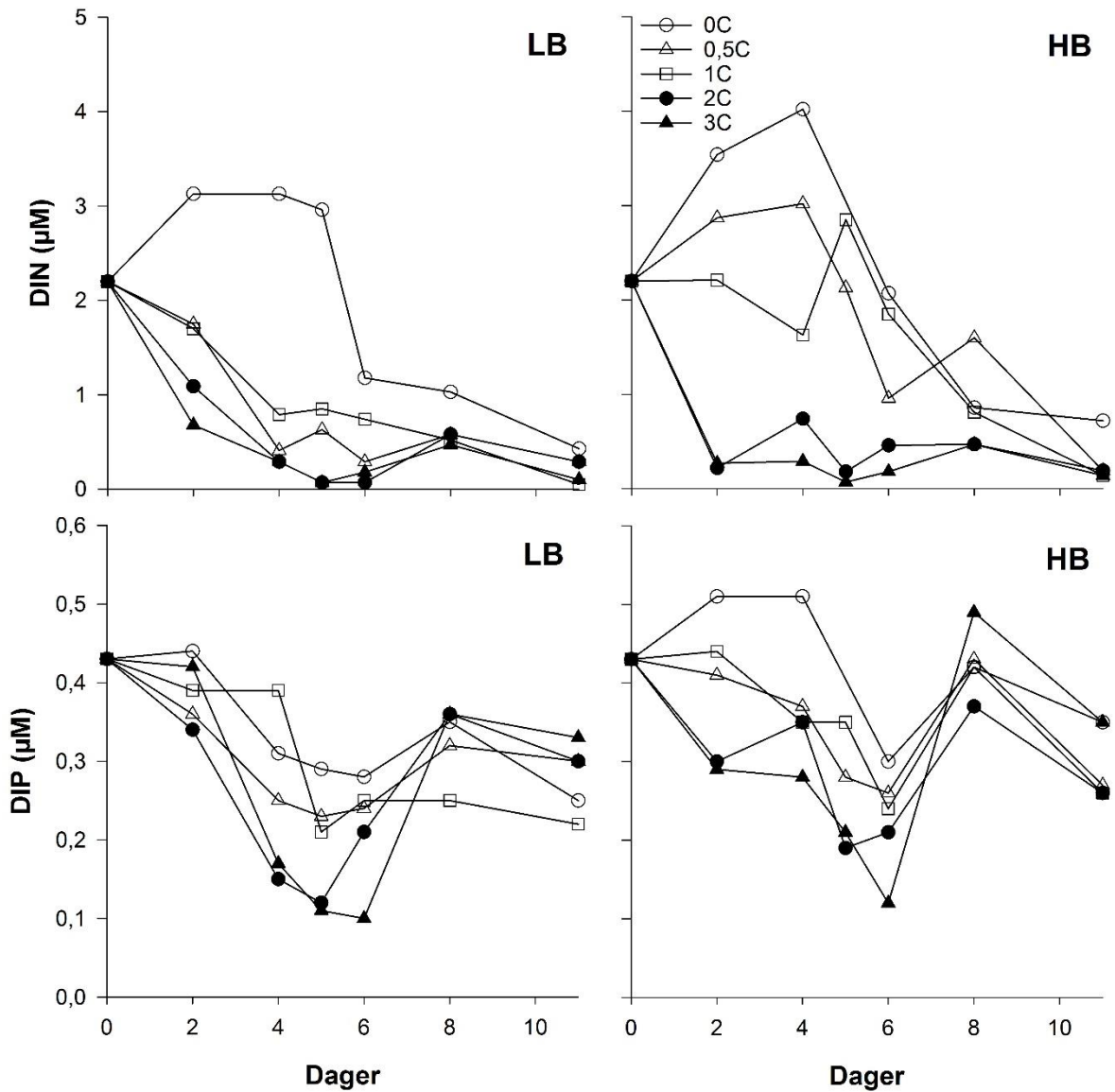
## 4.4 Mikrokosmeforsøket

### 4.4.1 Løste næringsalter (DIN og DIP)

Konsentrasjonen av DIN varierte fra 0,05 til 4,02  $\mu\text{M}$  gjennom hele forsøket (*Figur 4.17*). Det er viktig å presisere at målinger for ammonium ikke var inkludert, og at DIN kun var basert på nitratmålinger. Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste en akkumulering av DIN i LB-tanken med 0C fram til dag 4 (3,13  $\mu\text{M}$ ) og i resten av tankene var konsentrasjonene lave. For HB akkumulerte DIN i tankene < 2C fram til dag 4 og 5 (4,02 og 3,02  $\mu\text{M}$ ). Tankene  $\geq$  2C viste en rask nedgang i DIN og en lav nitratkonsentrasjon fra og med dag 2. I tankene < 2C gikk konsentrasjonen av DIN ned på rundt dag 5.

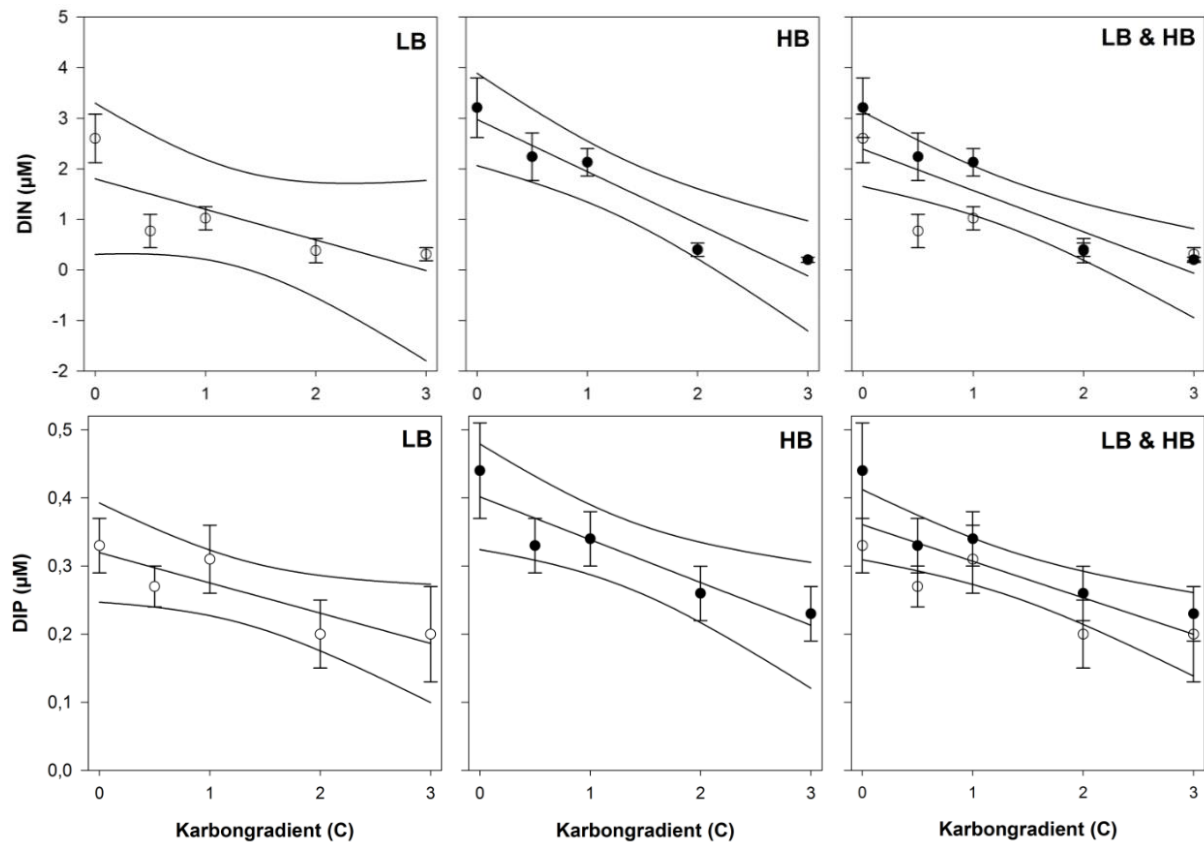
Konsentrasjonen av DIP varierte fra 0,10 til 0,51  $\mu\text{M}$  gjennom hele forsøket (*Figur 4.17*). Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste at tidlig i forsøket var konsentrasjonen av DIP for både LB og HB i tanken med 0C høyere sammenlignet med resten av tankene. Det ble observert en maksimumkonsentrasjon på dag 2 for alle LB-tankene (konsentrasjon mellom 0,29 til 0,51  $\mu\text{M}$ ). Mellom dag 2 og 8 gikk konsentrasjonen ned, og fra dag 8 og ut forsøket var det en tendens til økning der tankene  $\geq$  2C var høyest. For HB-tankene viste tanken med 0C høyest konsentrasjon mellom dag 2 og 4 (3,13  $\mu\text{M}$ ). Mellom dag 4 og 8 gikk konsentrasjonene ned før det ble observert en topp på dag 8 og en etterfølgende nedgang helt på slutten av forsøket.

Gjennomsnittlig konsentrasjon av DIN og DIP for dag 2 til dag 6 ble for DIN beregnet til 1,02 og 1,64  $\mu\text{M}$  i LB- og HB-tankene, og for DIP 0,28  $\mu\text{M}$  for begge. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på konsentrasjonen av DIN og signifikant effekt på DIP (*Figur 4.18*). Konsentrasjonen av DIP var i gjennomsnitt høyere i HB-tankene (parvis t-test  $p = 0,017$ ) som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene (*Tabell 4.7*). Konsentrasjonen av DIN minket med økt glukosetilsats i HB ( $R^2 = 0,92$  og  $p = 0,009$ ) og for DIP i LB ( $R^2 = 0,79$  og  $p = 0,004$ ) og HB ( $R^2 = 0,86$  og  $p = 0,022$ ) når tankene ble analysert hver for seg. Når LB og HB ble analysert samlet var glukoseeffekten negativ ( $R^2 = 0,70$  og  $p = 0,003$  for DIN,  $R^2 = 0,67$  og  $p = 0,004$  for DIP) (*Figur 4.18, Tabell 4.7*).



**Figur 4.17:** Tidsutviklingen for konsentrasjoner av løst uorganisk nitrogen (DIN;  $\text{NO}_3^-$ ) og løst uorganisk fosfor (DIP;  $\text{PO}_4^{3-}$ ) fra dag 0 til 11 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.





**Figur 4.18:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) av løst uorganisk nitrogen (DIN) og fosfor (DIP) som en funksjon av glukosegradient (0, 0,5, 1, 2 og 3C) i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.7:** Lineær regresjon med gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for løst uorganisk nitrogen (DIN) og løst uorganisk fosfor (DIP) for mikrokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

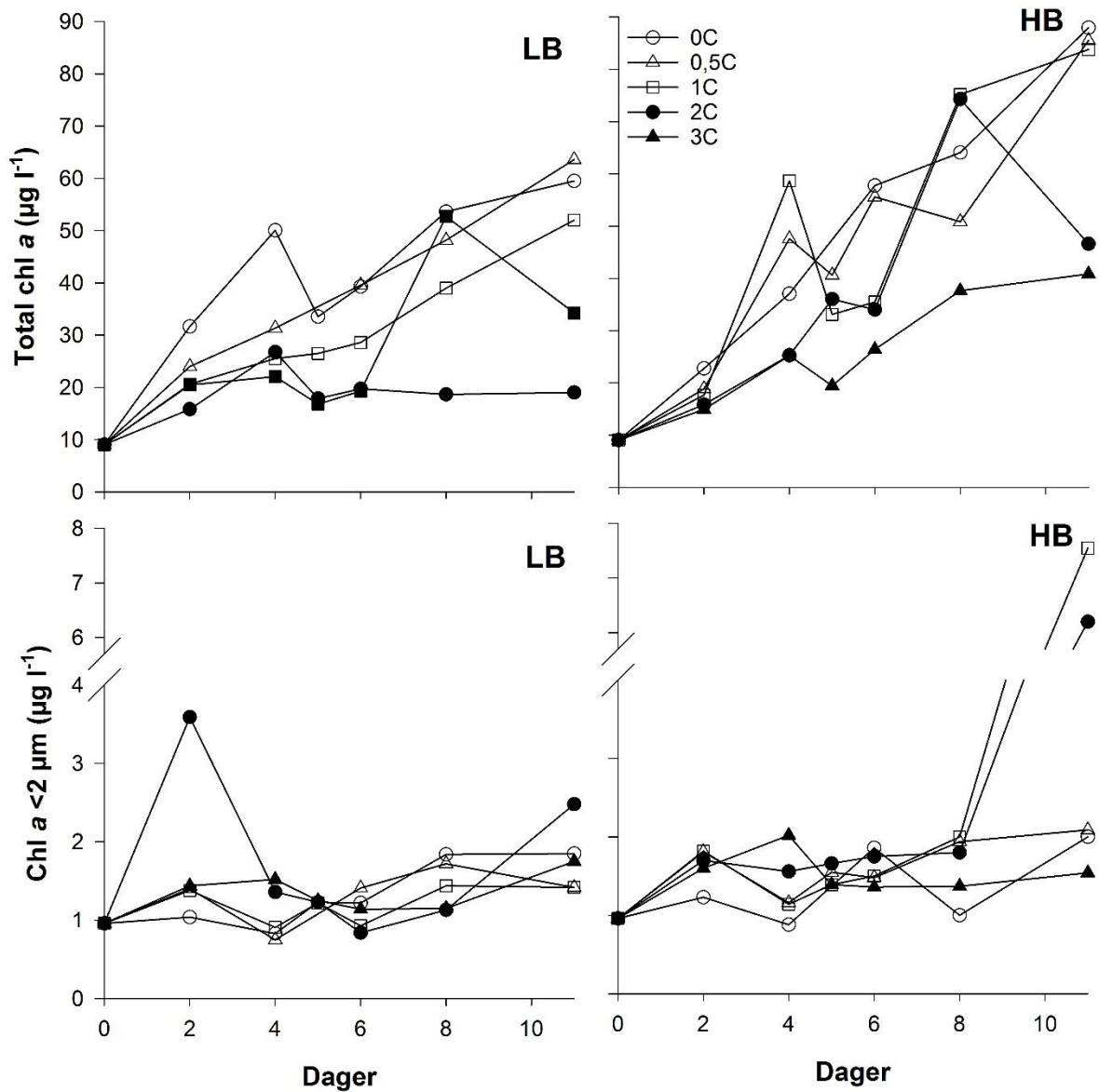
Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
DIN LB	$1,80 \pm 0,47$	0,031	$-0,61 \pm 0,28$	0,118	0,61	p = 0,112
DIN HB	$2,98 \pm 0,29$	0,002	$-1,03 \pm 0,17$	0,009	0,92	
DIP LB	$0,32 \pm 0,02$	0,0008	$-0,04 \pm 0,01$	0,004	0,79	p = 0,017
DIP HB	$0,40 \pm 0,02$	0,0005	$-0,06 \pm 0,01$	0,022	0,86	
DIN LB&HB	$2,39 \pm 0,32$	<0,0001	$-0,82 \pm 0,19$	0,003	0,70	
DIP LB&HB	$0,36 \pm 0,02$	<0,0001	$-0,05 \pm 0,01$	0,004	0,67	

#### 4.4.2 Klorofyll *a* (total chl *a* og chl *a* < 2 µm)

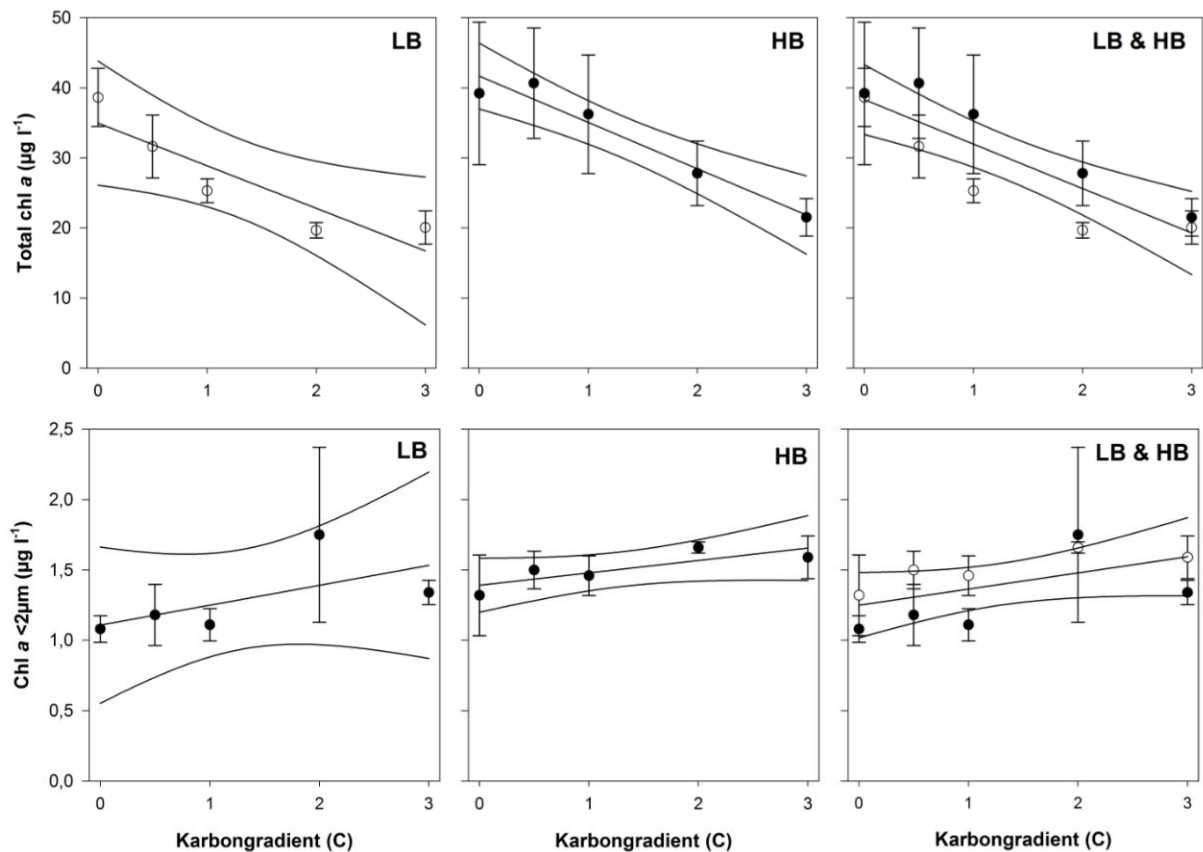
Klorofyll *a* (chl *a*) responderte allerede helt i begynnelsen av forsøket, og det viste seg at konsentrasjonen økte med minkende tilsetning av glukose (*Figur 4.19*). Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste en varierende utvikling av total chl *a* i LB- og HB-tankene (fra 9,08 til henholdsvis 63,6 og 88,0 µg chl *a* l<sup>-1</sup>). Gjennom hele forsøket var størrelsesfraksjonen > 20 µm dominerende. Konsentrasjonen av total chl *a* viste en jevn økning gjennom hele forsøket, og både LB- og HB-tankene hadde en maksimumskonsentrasjon på dag 11 i tankene < 2C (mellom 52,2 og 63,6 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for LB og mellom 83,8 og 88,0 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for HB).

Chl *a* < 2 µm viste relativt svak respons, men i LB-tanken med 2C var det en kraftig økning på dag 2, og for HB-tankene med 1C og 2C på dag 11 (*Figur 4.19*). Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste at andelen chl *a* < 2 µm hadde liten variasjon i utviklingen for LB og HB (fra 0,83 til henholdsvis 2,48 og 2,09 µl chl *a* l<sup>-1</sup>, uten ekstremtilfellene på dag 2 for LB og dag 11 for HB). Prosentandelen chl *a* < 2 µm av total chl *a* var i gjennomsnitt 5,23 ± 1,16 % for LB-tankene og 5,39 ± 0,86 % for HB-tankene for dag 2 til dag 6. Det ble ikke påvist signifikante ulikheter mellom tankene (parvis t-test  $p = 0,815$ ).

Gjennomsnittlig konsentrasjon for dag 2 til dag 6 ble for total chl *a* beregnet til 27,1 og 33,1 µg l<sup>-1</sup> for LB- og HB-tankene, og for chl *a* < 2 µm 1,29 og 1,51 µg l<sup>-1</sup> for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste signifikant effekt på konsentrasjonen av chl *a* (*Figur 4.20*). Konsentrasjonen var i gjennomsnitt høyere i HB enn LB (parvis t-test  $p = 0,046$  for total chl *a* og  $p = 0,052$  for chl *a* < 2 µm) som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene (*Tabell 4.8*). Konsentrasjonen av total chl *a* minket med økende glukosetilsats ( $R^2 = 0,82$  og  $p = 0,035$  for LB,  $R^2 = 0,95$  og  $p = 0,005$  for HB) både når LB og HB ble analysert hver for seg og samlet ( $R^2 = 0,75$  og  $p = 0,001$ ) (*Figur 4.20, Tabell 4.8*).



**Figur 4.19:** Tidsutviklingen for konsentrasjoner av total klorofyll a og klorofyll a < 2µm fra dag 0 til 11 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



**Figur 4.20:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$  SE) av total klorofyll a og klorofyll a  $< 2\mu\text{m}$  som en funksjon av glukosegradient (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.8:** Lineær regresjon med gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til 6 for total klorofyll a og klorofyll a  $< 2\mu\text{m}$  for mikrokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

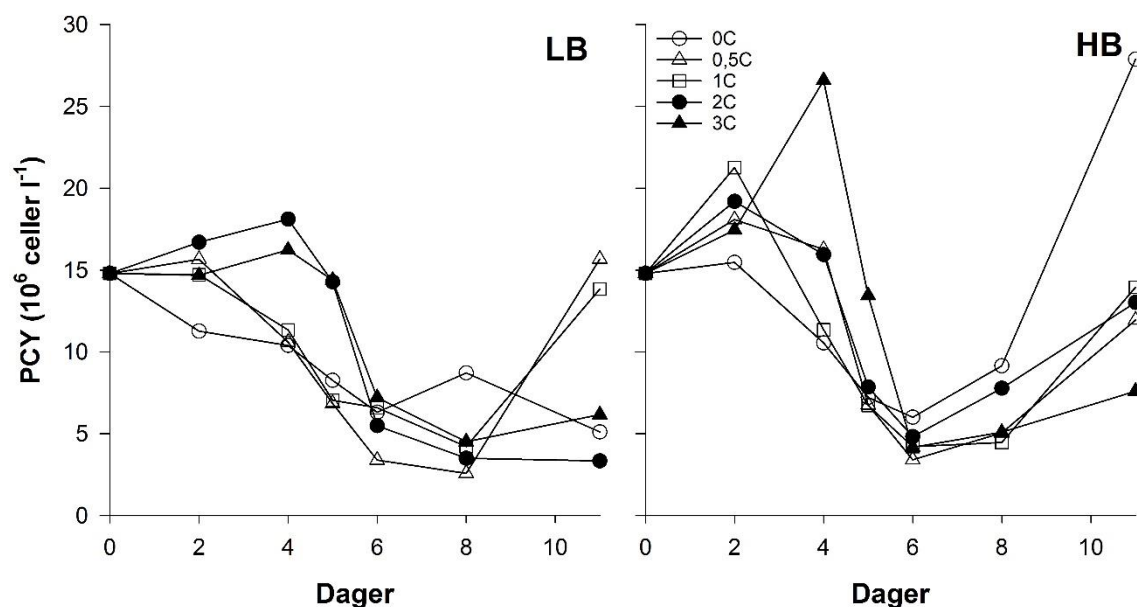
Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
Total chl a LB	$35,0 \pm 2,78$	0,001	$-6,08 \pm 1,65$	0,035	0,82	p = 0,046
Total chl a HB	$41,7 \pm 1,48$	<0,0001	$-6,61 \pm 0,87$	0,005	0,95	
Chl a $< 2\mu\text{m}$ LB	$1,11 \pm 0,18$	0,008	$0,14 \pm 0,10$	0,270	0,38	p = 0,052
Chl a $< 2\mu\text{m}$ HB	$1,39 \pm 0,06$	0,0002	$0,09 \pm 0,04$	0,092	0,67	
Total chl a LB&HB	$38,3 \pm 2,16$	<0,0001	$-6,35 \pm 1,28$	0,001	0,75	
Chl a $< 2\mu\text{m}$ LB&HB	$1,25 \pm 0,10$	<0,0001	$0,11 \pm 0,06$	0,091	0,32	

### 4.4.3 Pikoplankton

#### *Piko-autotrofe cyanobakterier (PCY)*

Prosentandelen av *Synechococcus* av den totale mengden fytoplankton fra prøvene telt på FCM var i gjennomsnitt 19 % for LB og 15 % for HB (data ikke vist). PCY responderte på dag 2 og dag 4 med en svak økning. Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste en lik trend for LB- og HB-tankene (Figur 4.21). For hele forsøket varierte tettheten mellom  $2,58$  og  $18,1 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $3,41$  og  $27,9 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for HB. I starten var det kun tankene  $\geq 2C$  som økte for LB, med et maksimum på dag 4 (mellom  $16,2$  og  $18,1 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ). Tankene  $< 2C$  hadde en tetthet mellom  $10,3$  og  $11,3 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  samme dag. For HB viste tanken med  $3C$  mest økning, og hadde et maksimum på dag 4 ( $26,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ ). Tankene  $< 3C$  hadde en tetthet mellom  $10,6$  og  $16,3 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  samme dag. Etter dag 4 reduserte tettheten i samtlige tanker med en økning på slutten for  $0,5C$  og  $1C$  for LB, og samtlige i HB (spesielt  $0C$ ).

En gjennomsnittlig celletetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $11,0$  og  $11,8 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på tettheten av PCY (Figur 4.25, Tabell 4.9). Tettheten av PCY økte med økende glukosetilsats når tankene ble analysert hver for seg ( $R^2 = 0,83$  og  $p = 0,031$  for LB,  $R^2 = 0,88$  og  $p = 0,019$  for HB), og forsterket effekt når tankene ble analysert samlet ( $R^2 = 0,81$  og  $p = 0,0004$ ) (Figur 4.25, Tabell 4.9).

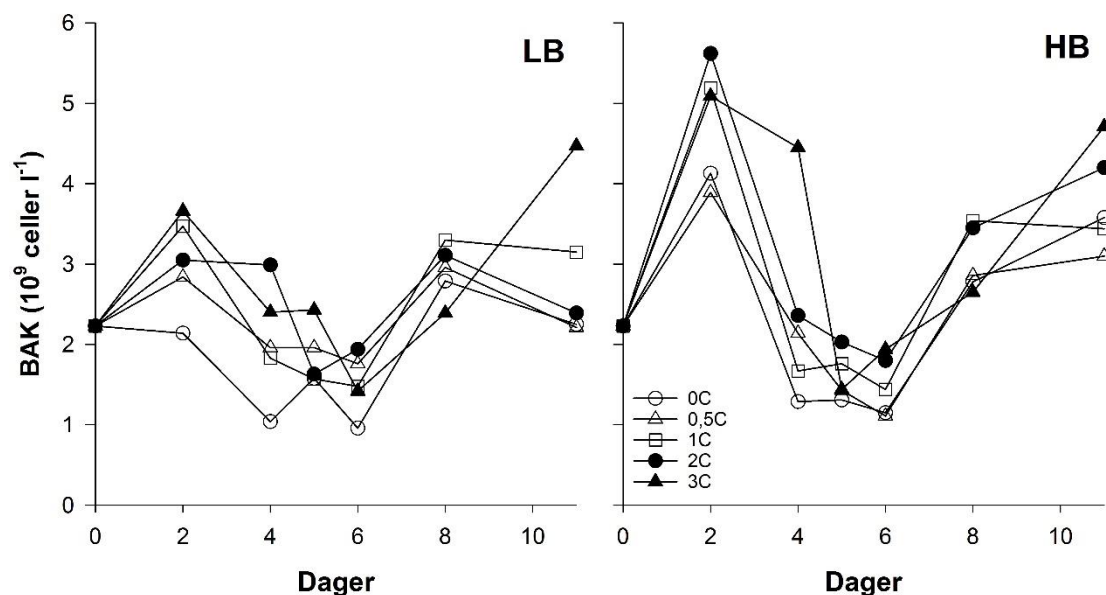


**Figur 4.21:** Tidsutviklingen for celletetthet av pikocyanobakterier (PCY) fra dag 0 til 11 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra  $0C$  til  $3C$ , der  $0C$  er ingen og  $3C$  er høyest tilsetning av glukose.

*Piko-heterotrofe bakterier (BAK)*

BAK responderte ganske tidlig i forsøket, med en økning på dag 2 for både LB- og HB-tankene. For hele forsøket viste tidsforløpet fra dag 0 til 11 en lik trend for LB og HB (Figur 4.22). For hele forsøket varierte celletettheten mellom  $0,96$  og  $4,47 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $1,10$  og  $5,62 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for HB. Det var ingen tanker som skilte seg ut, og både LB- og HB-tankene hadde et maksimum på dag 2 og dag 11. På dag 2 lå tettheten mellom  $2,14$  og  $3,66 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom  $3,89$  og  $5,62 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for HB. Fra dag 2 til 6 reduserte tettheten betydelig i samtlige tanker for både LB og HB. Fra dag 6 og ut forsøket var det en økning i alle HB-tankene (mellom  $3,10$  og  $4,71 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ ) og 3C tanken for LB ( $4,47 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ ).

Gjennomsnittlig celletetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $2,11$  og  $2,56 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste signifikant effekt på tettheten av BAK (Figur 4.25). Tettheten var i gjennomsnitt høyere i HB-tankene (parvis t-test  $p = 0,021$ ) som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene (Tabell 4.9). BAK viste en tydelig respons på økt glukosetilsats for HB ( $R^2 = 0,98$  og  $p = 0,002$ ) når tankene ble analysert hver for seg. Når tankene ble analysert samlet var det en positiv glukoseeffekt ( $R^2 = 0,66$  og  $p = 0,004$ ) (Figur 4.25, Tabell 4.9).



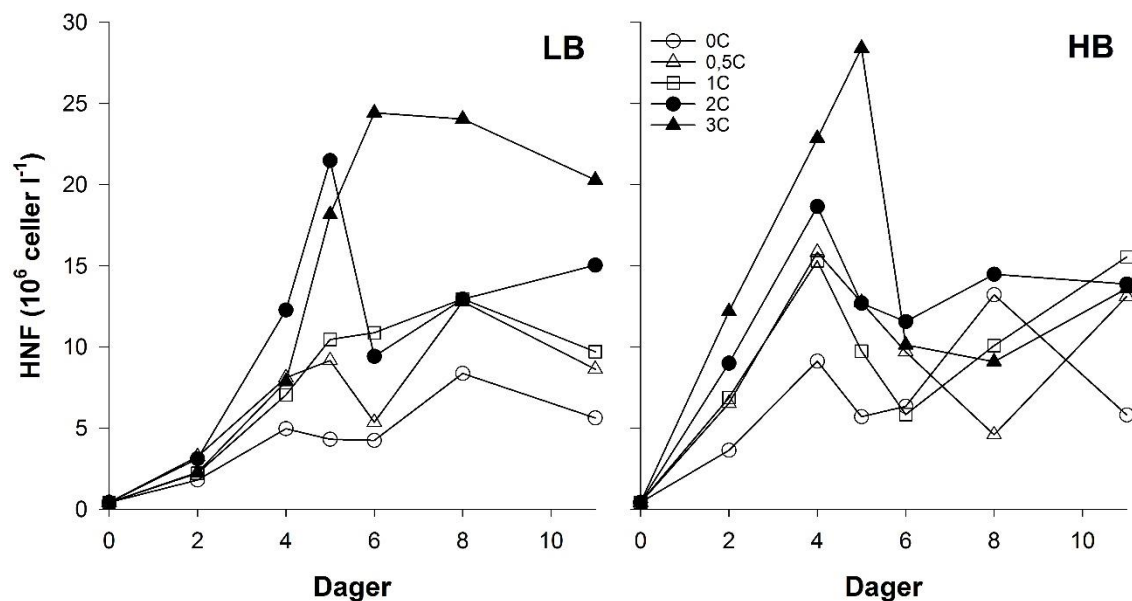
**Figur 4.22:** Tidsutviklingen for celletetthet av heterotrofe bakterier (BAK) fra dag 0 til 11 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

#### 4.4.4 Predatoreer

##### *Heterotrofe nanoflagellater (HNF)*

HNF responderte på dag 4 for LB og dag 2 for HB, og utviklingen varierte mellom tankene (Figur 4.23). Tidsforløpet fra dag 0 til 11 viste at i første del av forsøket var det tankene  $\geq 2C$  som økte mest med et maksimum på dag 6 for LB ( $24,4 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ ) og dag 5 for HB ( $28,4 \cdot 10^9$  celler  $l^{-1}$ ). For hele forsøket varierte celletettheten mellom 0,43 og  $24,4 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB og mellom 0,43 og  $28,3 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for HB. Fra dag 5 og ut forsøket viste tanken med 2C en kraftig reduksjon i LB, og samtlige tanker forble på lik tetthet ut forsøket. Unntaket var 3C tanken som viste tydelig høyere tetthet enn de andre tankene. For HB reduserte tettheten fra dag 6 og ut forsøket, med en svak økning i noen av tankene på siste dag av forsøket.

Gjennomsnittlig celletetthet for dag 2 til dag 6 ble beregnet til  $8,54$  og  $11,6 \cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$  for LB- og HB-tankene. Høy kopepodebiomasse viste signifikant effekt på tettheten av HNF (Figur 4.25). Skjæringspunktene var noe ulike og HB-tankene viste i gjennomsnitt en høyere tetthet (parvis t-test  $p = 0,017$ ), som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene. HNF viste en tydelig respons på økt glukosetilsats for LB og HB når tankene ble analysert hver for seg ( $R^2 = 0,97$  og  $p = 0,002$  for LB,  $R^2 = 0,88$  og  $p = 0,018$  for HB). Når tankene ble analysert samlet økte tettheten av HNF med økende glukosetilsats ( $R^2 = 0,78$  og  $p = 0,001$ ) (Figur 4.25, Tabell 4.9).

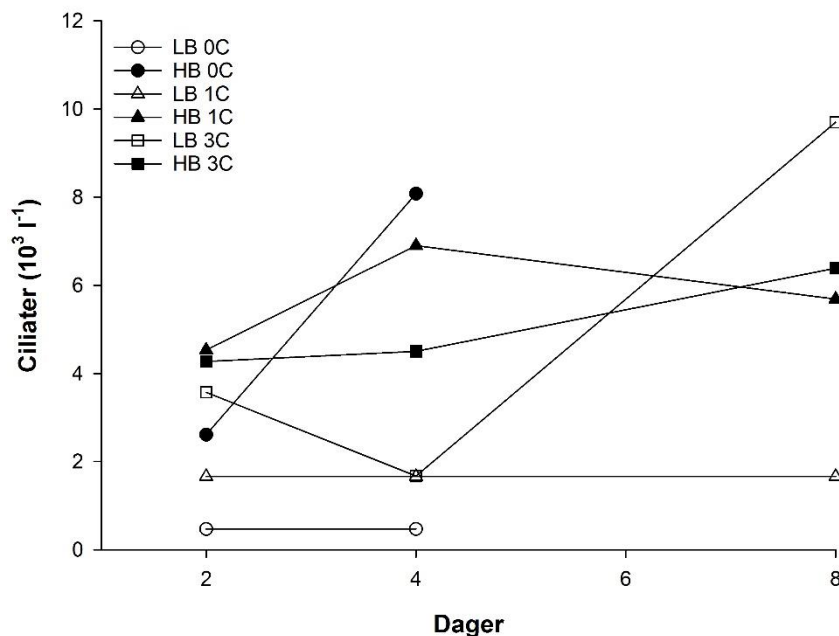


**Figur 4.23:** Tidsutviklingen for celletetthet av heterotrofe nanoflagellater (HNF) fra dag 0 til 11 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

### Ciliater

På bakgrunn av få datapunkter for CIL var det utfordrende å si noe sikkert om påvirkningen på de andre gruppene. CIL responderte på dag 2, og utviklingen var ulik i LB og HB-tankene (Figur 4.24). Samtlige tanker viste en positiv utvikling, og fra dag 4 og ut forsøket viste noen tanker en nedgang (tankene med 1C). Det var LB-tanken med høyest tilsetning av glukose (3C) som hadde høyest tetthet på slutten (dag 8) ( $9,7 \cdot 10^3 \text{ l}^{-1}$ ).

De små CIL (20-40  $\mu\text{M}$  ESD) dominerte i HB-tankene (gjennomsnitt 56 %). I LB-tankene var det de små og middelsstore (40-60  $\mu\text{M}$  ESD) CIL som dominerte (gjennomsnitt 32 %). Andelen store CIL (>60  $\mu\text{M}$  ESD) var høyere i HB-tankene (5 %) enn LB-tankene (2 %).

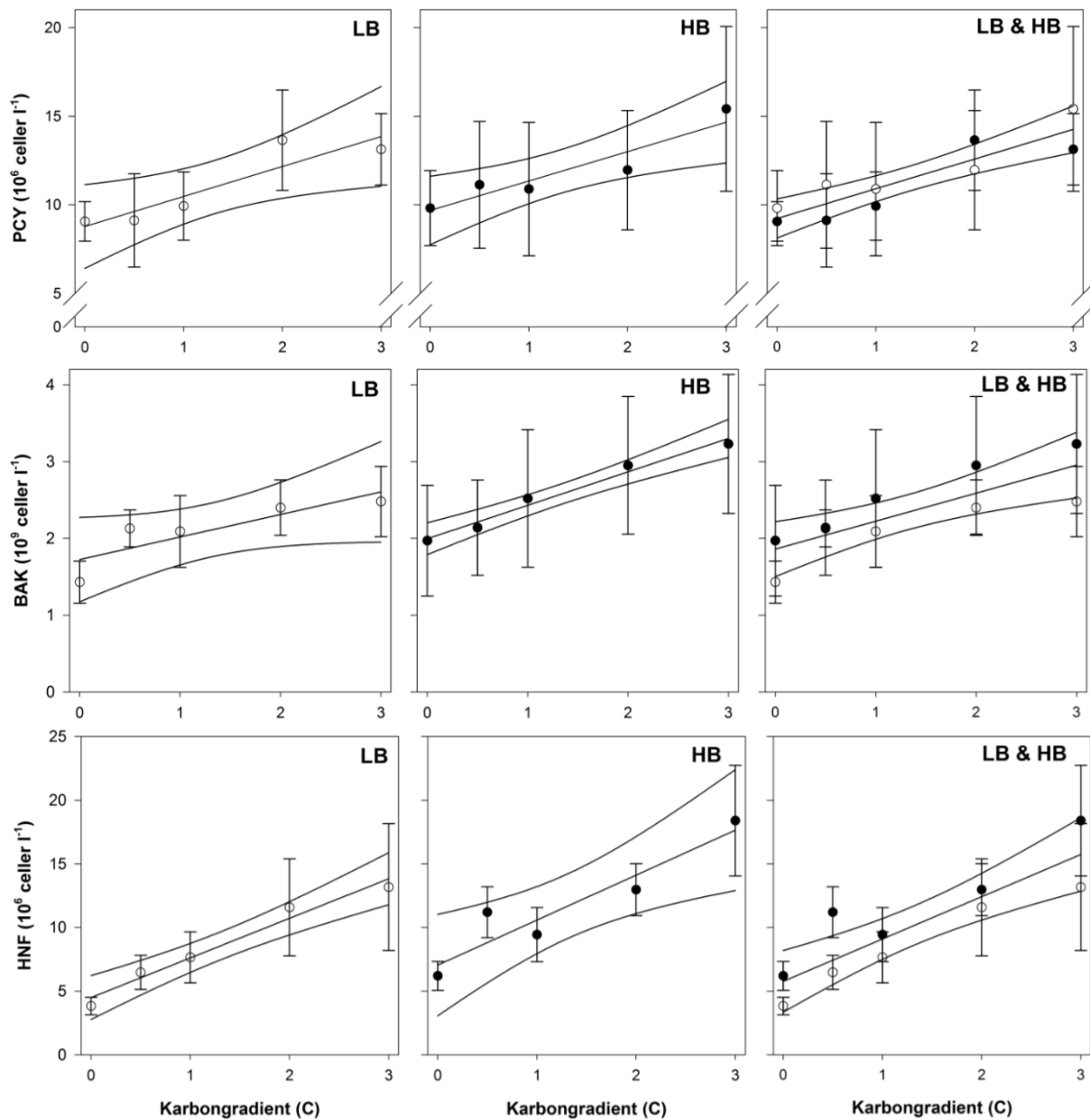


**Figur 4.24:** Tidsutviklingen for celletetthet av ciliater fra dag 2 til 8 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

### Kopepoder

Det ble observert en forskjell i tetthet og biomasse av kopepoder mellom LB- og HB-tankene. Selv om tettheten ikke var mye høyere (gjennomsnitt 121 individer  $\text{l}^{-1}$  for LB og 190 individer  $\text{l}^{-1}$  for HB), viste HB-tankene en biomasse som var tre-fire ganger så høy sammenlignet med LB-tankene (gjennomsnitt 24,4  $\mu\text{g C l}^{-1}$  for LB og 128,6  $\mu\text{g C l}^{-1}$  for HB). Forklaringen kan være at kopepodene som var i HB-tankene var større sammenlignet med de i LB-tankene, og dermed førte til økt biomasse (data ikke vist). Kopepodene som var dominerende i både LB- og HB-tankene var artene *Paracalanus parvus* og *Oithona similis*.





**Figur 4.25:** Gjennomsnittlig celledetthet ( $\pm$ SE) for de ulike funksjonelle gruppene (PCY, BAK og HNF) som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.

**Tabell 4.9:** Lineær regresjon med gjennomsnittlig celletetthet ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for PCY, BAK og HNF for mikrokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende p-verdier), samt p-verdi for parvis t-test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

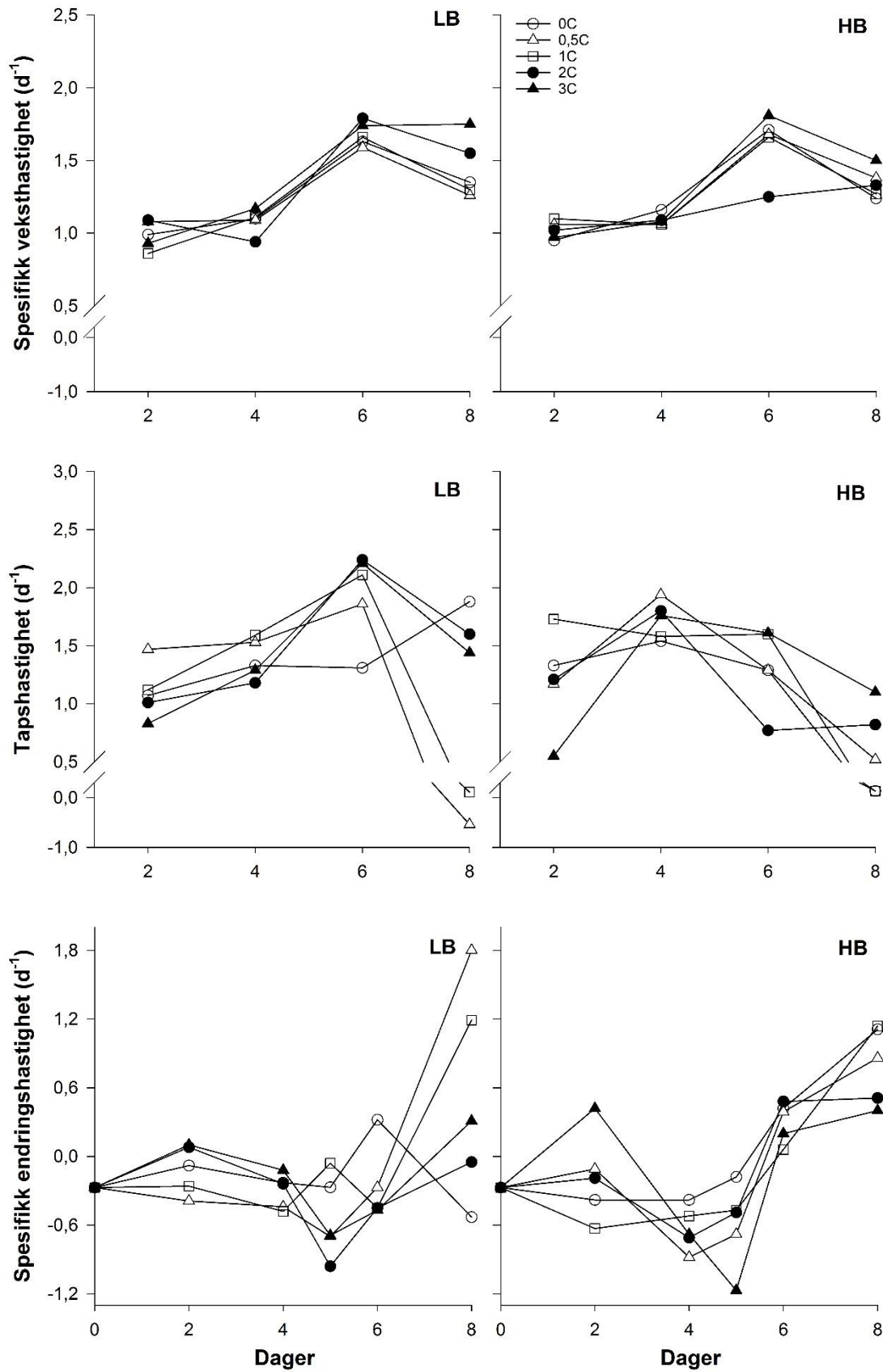
Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
PCY LB	$8,78 \pm 0,74$	0,001	$1,69 \pm 0,44$	0,031	0,83	p = 0,288
PCY HB	$9,68 \pm 0,61$	0,001	$1,66 \pm 0,36$	0,019	0,88	
BAK LB	$1,72 \pm 0,17$	0,002	$0,29 \pm 0,10$	0,064	0,73	p = 0,021
BAK HB	$1,99 \pm 0,06$	<0,0001	$0,44 \pm 0,04$	0,002	0,98	
HNF LB	$4,49 \pm 0,54$	0,004	$3,11 \pm 0,32$	0,002	0,97	p = 0,017
HNF HB	$7,05 \pm 1,25$	0,011	$3,54 \pm 0,74$	0,018	0,88	
PCY LB&HB	$9,23 \pm 0,5$	<0,0001	$1,68 \pm 0,3$	0,0004	0,81	
BAK LB&HB	$1,86 \pm 0,2$	<0,0001	$0,36 \pm 0,1$	0,004	0,66	
HNF LB&HB	$5,77 \pm 1,1$	0,001	$3,33 \pm 0,6$	0,001	0,78	

#### 4.4.5 Spesifikk vekst ( $\mu$ )-, tap (t)- og endringshastighet (r)

##### *Piko-autotrofe cyanobakterier (PCY)*

Vekstraten for PCY viste ingen store variasjoner (gjennomsnittlig  $\mu$  mellom 1,24 og 1,33  $d^{-1}$ ). Tidsutviklingen fra dag 0 til 11 viste at vekstraten var lik i LB- og HB-tankene, og at tapsraten var minkende på slutten av forsøket (*Figur 4.26*). Gjennomsnittlig tap varierte mellom 1,15 og 1,41  $d^{-1}$ . Det var kun på slutten av forsøket at endringsraten var positiv, som betyr at tapsraten generelt var høyere enn vekstraten i store deler av forsøket.

Gjennomsnittlig vekst, tap og endring for dag 2 til dag 6 i LB- og HB-tankene ble beregnet til 1,25 og 1,24  $d^{-1}$  for  $\mu$ , 1,48 og 1,41  $d^{-1}$  for t og -0,30 og -0,27  $d^{-1}$  for r. Tapsraten var høyere enn vekstraten for både LB og HB, noe som betyr negativ endringsrate. Høy kopepodebiomasse viste ingen effekt på  $\mu$ , t og r for tettheten av PCY (*Figur 4.28*). Både  $\mu$  og t var i gjennomsnittet høyere for HB enn LB, men parvise t-tester viste ingen signifikante ulikheter mellom tankene (*Tabell 4.10*). Det var ingen signifikant relasjon mellom glukosegradienten og hastigheten for vekst, tap og endring hos PCY, hverken når LB- og HB-tankene ble analysert hver for seg eller når analysert samlet (*Figur 4.28, Tabell 4.10*).

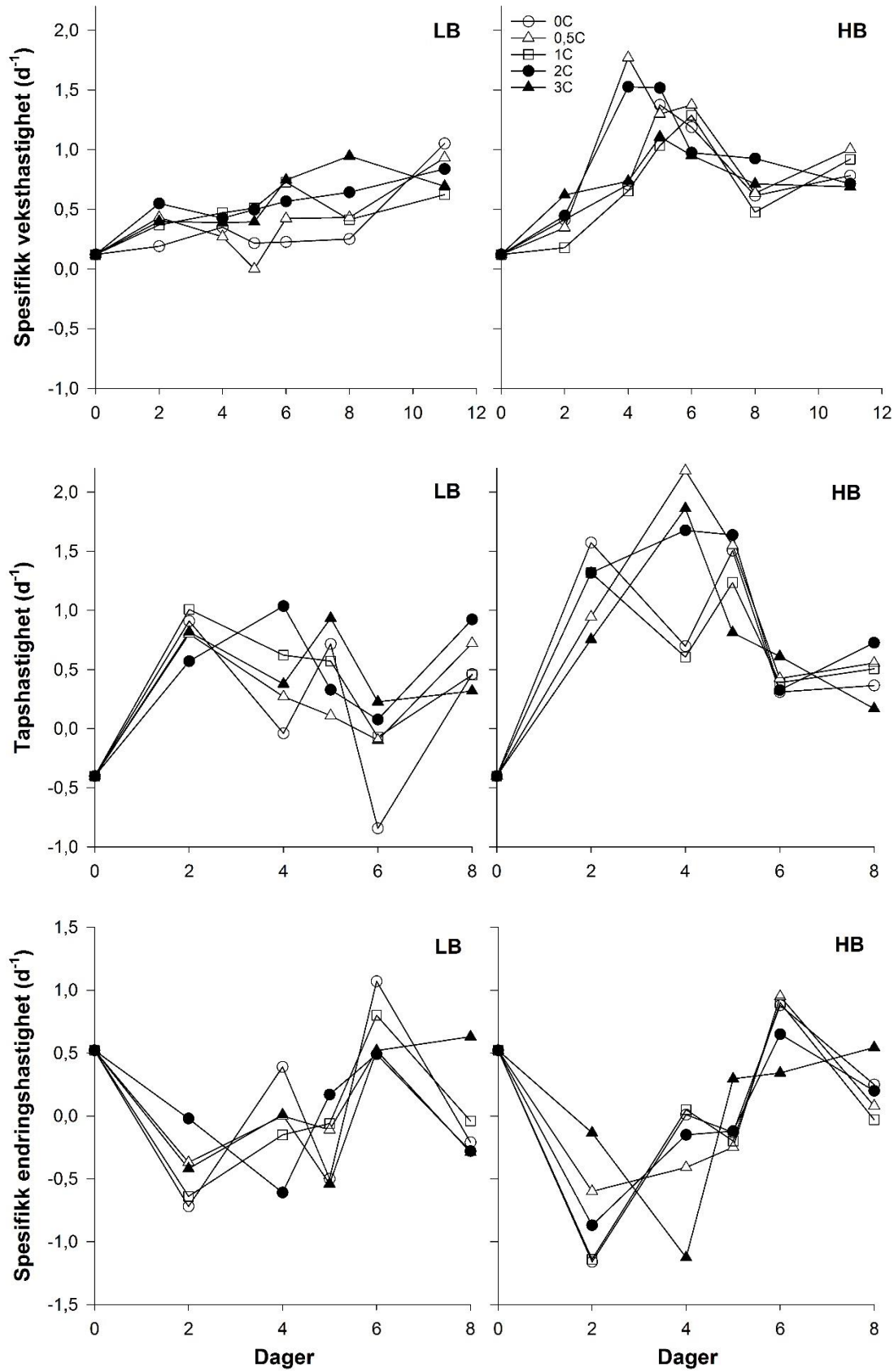


**Figur 4.26:** Tidsutviklingen for hastigheten ( $d^{-1}$ ) av spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for PCY fra dag 0 til 8 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

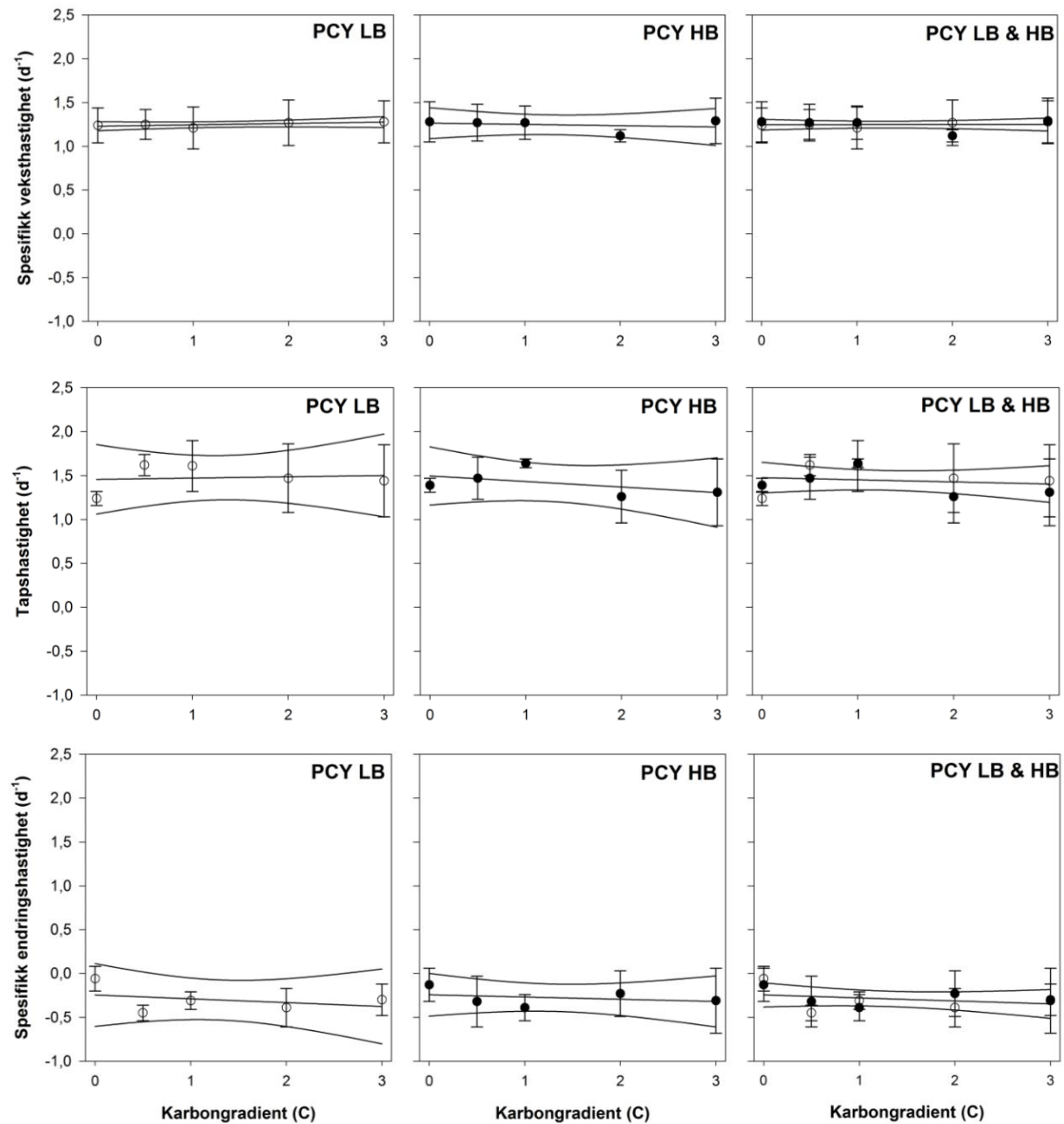
### *Piko-heterotrofe bakterier (BAK)*

Vekstraten for BAK viste ingen store variasjoner (gjennomsnittlig  $\mu$  mellom 0,41 og 0,84  $d^{-1}$ ), men det ble observert en ulik  $\mu$  for LB og HB. Tidsutviklingen fra dag 0 til 11 viste at vekstraten var lavere i LB- enn HB-tankene, og tapsraten var i gjennomsnitt lavere i LB (henholdsvis 0,39 og 1,02  $d^{-1}$ ) (*Figur 4.27*).

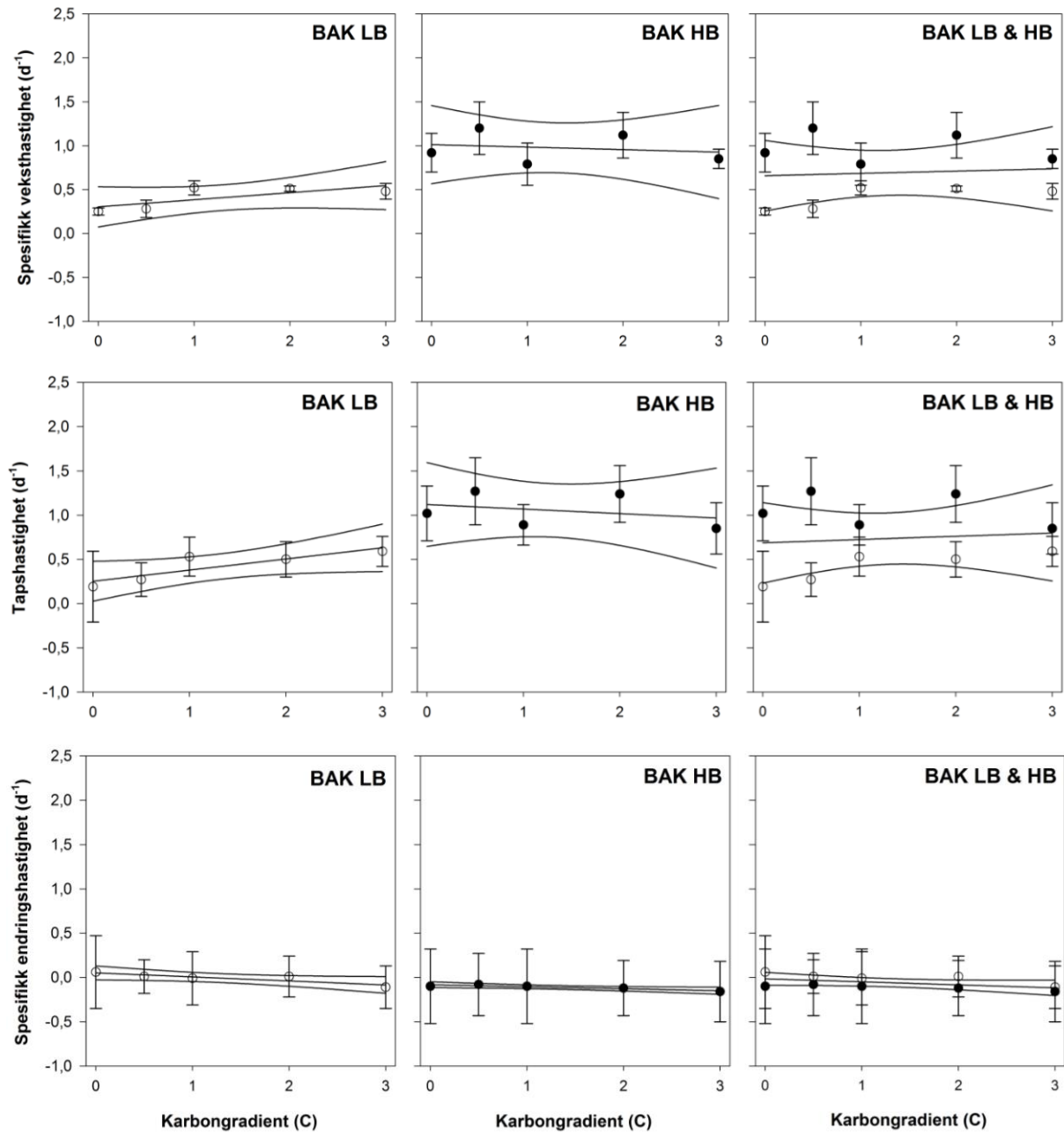
Gjennomsnittlig vekst, tap og endring for dag 2 til dag 6 i LB- og HB-tankene ble beregnet til 0,41 og 0,98  $d^{-1}$  for  $\mu$ , 0,42 og 1,06  $d^{-1}$  for  $t$  og -0,01 og -0,11  $d^{-1}$  for  $r$ . For LB var vekst- og tapsraten tilnærmet like, derav endringsrate lik 0. For HB var tapsraten høyere enn vekstraten, noe som ga en negativ endringsrate. Høy kopepodebiomasse viste signifikant effekt på  $\mu$ ,  $t$  og  $r$  for tettheten av BAK (*Figur 4.29*). Både  $\mu$  og  $t$  var i gjennomsnitt høyere for HB enn LB og skjæringspunktene var noe ulike (parvis t-test  $p < 0,05$ ) som kan skyldes økt predasjon fra kopepodene (*Tabell 4.11*). Endringsraten minket med økende glukosetilsats når tankene ble analysert hver for seg ( $R^2 = 0,76$  og  $p = 0,054$  for LB,  $R^2 = 0,81$  og  $p = 0,038$  for HB). Når tankene ble analysert samlet var det ingen signifikante glukoseeffekter (*Figur 4.29, Tabell 4.11*).



**Figur 4.27:** Tidsutviklingen for hastigheten ( $d^{-1}$ ) av spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for BAK fra dag 0 til 8 og 10 for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.



**Figur 4.28:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for PCY som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.



**Figur 4.29:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm$ SE) for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring ( $r$ ) for BAK som en funksjon av glukosegradienter (0, 0,5, 1, 2 og 3C) for mikrokosmeforsøket i tankene med lavt beitetrykk (LB), høyt beitetrykk (HB) og LB- og HB-tankene samlet. De rette linjene representerer regresjonslinjen og kurvene er 95 % konfidensbånd. Gjennomsnitt beregnet for dag 2 til dag 6.



**Tabell 4.10:** Lineær regresjon med gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for PCY for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring( $r$ ) for mikrokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende  $p$ -verdier), samt  $p$ -verdi for parvis  $t$ -test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
PCY LB $\mu$	1,23 $\pm$ 0,02	<0,0001	0,01 $\pm$ 0,01	0,204	0,47	p = 0,625*
PCY HB $\mu$	1,26 $\pm$ 0,05	0,0002	-0,01 $\pm$ 0,03	0,690	0,06	
PCY LB $t$	1,45 $\pm$ 0,13	0,001	0,02 $\pm$ 0,07	0,853	0,02	p = 0,402
PCY HB $t$	1,49 $\pm$ 0,10	0,001	-0,06 $\pm$ 0,06	0,382	0,26	
PCY LB $r$	-0,25 $\pm$ 0,11	0,117	-0,04 $\pm$ 0,07	0,561	0,11	p = 0,632
PCY HB $r$	-0,24 $\pm$ 0,08	0,051	-0,02 $\pm$ 0,05	0,618	0,08	
LB & HB $\mu$	1,25 $\pm$ 0,03	<0,0001	0,001 $\pm$ 0,02	0,975	0,0001	
LB & HB $t$	1,48 $\pm$ 0,08	<0,0001	-0,02 $\pm$ 0,05	0,606	0,03	
LB & HB $r$	-0,24 $\pm$ 0,06	0,003	-0,03 $\pm$ 0,04	0,360	0,11	

\* Parvis t-test feilet da Shapiro-Wilks normalitetstest feilet. Gjort som Wilcoxon signed rank test.

**Tabell 4.11:** Lineær regresjon med gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for dag 2 til 6 for BAK for spesifikk vekst ( $\mu$ ), tap ( $t$ ) og endring( $r$ ) for mikrokosmeforsøket for LB og HB hver for seg og samlet. Tabellen viser en oversikt over  $R^2$ -verdi, skjæringspunkt og stigningskoeffisient (med tilhørende  $p$ -verdier), samt  $p$ -verdi for parvis  $t$ -test mellom LB og HB for samme glukosetilsetning. Signifikansnivået er  $\alpha = 0,05$ .

Regresjon	Skjæringspunkt		Stigningskoeffisient		$R^2$	Parvis t-test
	Estimat	p-verdi	Estimat	p-verdi		
BAK LB $\mu$	0,30 $\pm$ 0,07	0,025	0,08 $\pm$ 0,04	0,155	0,55	p = 0,008
BAK HB $\mu$	1,01 $\pm$ 0,14	0,005	-0,03 $\pm$ 0,08	0,756	0,04	
BAK LB $t$	0,25 $\pm$ 0,07	0,04	0,13 $\pm$ 0,04	0,057	0,75	p = 0,011
BAK HB $t$	1,12 $\pm$ 0,15	0,005	-0,05 $\pm$ 0,09	0,604	0,1	
BAK LB $r$	0,05 $\pm$ 0,02	0,135	-0,04 $\pm$ 0,01	0,054	0,76	p = 0,005
BAK HB $r$	-0,08 $\pm$ 0,01	0,005	-0,02 $\pm$ 0,01	0,038	0,81	
LB & HB $\mu$	0,66 $\pm$ 0,18	0,006	0,03 $\pm$ 0,10	0,806	0,01	
LB & HB $t$	0,69 $\pm$ 0,20	0,009	0,04 $\pm$ 0,12	0,757	0,01	
LB & HB $r$	-0,02 $\pm$ 0,03	0,634	-0,03 $\pm$ 0,02	0,108	0,29	

## 5 Diskusjon

Et mål med oppgaven var å observere hvordan ulik tilsetning av glukose ville påvirke celletetthet og vekst hos PCY og BAK på bunnen av næringsnett, og om dette var effekter som kunne oppdages på høyere trofiske nivåer. I kombinasjon med ulik tilsetning av glukose skulle det i tillegg observeres om en økt biomasse av KOP kunne påvirke veksten og/eller tapet av PCY og BAK gjennom kaskadeeffekter nedover i næringsnett. Det ble forventet at når næringsfaltene ble begrenset ville det føre til en konkurranse mellom PCY og BAK. Effekten av økt biomasse av dyreplankton ble forventet å gi en endring i konkurransen mellom BAK og PCY gjennom kaskadeeffekter som påvirker mulig predatorer (som i Sundt-Hansen et al. 2006).

Resultatene for mesokosmeforsøket viste at økt glukosetilsats førte til økt tetthet og vekst for BAK, og en nedgang av klorofyll *a*, som forventet. Tettheten av HNF økte også, da en høyere tetthet av BAK førte til mer næring for HNF. Høy biomasse av KOP hadde en positiv effekt på tettheten av BAK, og ikke PCY, som forventet.

Resultatene for mikrokosmeforsøket viste at økt glukosetilsats førte til økt tetthet for PCY og BAK, og en nedgang av klorofyll *a*. Også her økte tettheten av HNF da mer næring ble tilgjengelig. Høy biomasse av KOP hadde en positiv effekt på tettheten og veksten for BAK, og ikke PCY, som forventet. I tillegg økte konsentrasjonen av klorofyll *a* og tettheten av HNF. Dette kan forklares med at KOP beiter på CIL, som fører til et lavere beitetrykk på algene og HNF.

Vannet som ble brukt til mesokosmeforsøket ble ikke filtrert, og ved fylling av tankene traff vi sannsynligvis på et sjikt med mye dyreplankton. Vi oppdaget at tettheten av kopepoder var mye høyere i LB-tankene enn antatt, slik at det måtte tilsettes ekstra kopepoder til HB-tankene (i tillegg til det som ble tilsatt på dag 0). Vannet som ble brukt til mikrokosmeforsøket ble filtrert, og det ble observert en større forskjell mellom LB- og HB-tankene. Vi møtte utfordringer med å holde kopepodene i live fram til tidspunktet de skulle tilsettes HB-tankene. Under innsamling av kopepoder måtte håven trekkes gjennom et nokså dypt brakkvannslag på vei opp. Dette kan ha påvirket fysiologien hos kopepodene, og det ble observert halvdøde kopepoder før tilsetning. Døde kopepoder kan ha bidratt til økt partikulært materiale som igjen betyr mer næring til bakteriene.

## 5.1 Kontrollforsøkene; filtrering- og døgnforsøk

Filtreringsforsøket, i kombinasjon med bakgrunnskunnskaper om hvor ulike grupper posisjonerer seg i tetthetsplottet på FCM, sørget for at riktige innstillinger ble benyttet ved analysering av piko- og nanoplanktonet. Som vist i *Figur 4.1* forsvant så å si alt PCY da vannet ble filtrert på 0,2 µm filter. I tillegg var det størst nedgang i antallet PCY-partikler da vannet ble filtrert med 0,8 µm filter. Dette betyr at partiklene som ble tolket å være PCY var mellom 0,8 og 1,0 µm. Dette stemmer overens med beskrivelser av *Synechococcus*, som antas å ha en størrelse som varierer mellom 0,6 og 1,6 µm (Perkins et al. 1984).

Sammenlignet med normal tid for prøvetaking for mesokosme- og mikrokosmeforsøket, var resultatene fra døgnforsøket tilfredsstillende. Døgngjennomsnittet for celledetthet og FDC lå tett oppimot verdiene som ble antatt å være rundt prøvetakingstidspunktet (*Figur 4.2, Figur 4.3, Tabell 4.1*). Ulike studier rapporterer om ulike tider på døgnet med maksimal celledeling og er sterkt relatert til sesongvariasjoner og temperatur. Campbell & Carpenter (1986) studerte hvordan en høyere temperatur ga en høyere (og raskere) FDC etter en lysperiode, og viste at det var en sammenheng mellom temperatur og FDC. Andre faktorer som påvirker FDC er dyp, stabilitet i vannsøylen, begrensede næringssalter og predasjonspress (Campbell & Carpenter 1986, Agawin et al. 1998, Jahan et al. 2001).

Selv om både celledetthet og  $\mu_{FDC}$  var noe underestimert sammenlignet med de døgnbaserte verdiene, var resultatene tilfredsstillende da ingen signifikante ulikheter ble påvist mellom døgngjennomsnittet og prøvetidspunkt. Årsaker til underestimering kan være lite metabolsk aktivitet hos PCY og økt predasjonsstrykk på delende celler (fordi de er fysisk større) (Campbell & Carpenter, 1986).

## 5.2 Celledetthet og veksthastigheter

Under mesokosmeforsøket ble det observert en algebiomasse dominert av alger < 2 µm i første halvdel av forsøket og som var over dobbelt så høyt enn i mikrokosmeforsøket. I gjennomsnitt var det HB-tankene som hadde høyest andel av alger < 2 µm. Dette kan tyde på at KOP beiter på de store algene, og at KOP spiser en god del CIL som beiter på de små algene (Johnson 1986); Stoecker & Capuzzo 1990; Irigoien et al. 2000). Fra midten og ut forsøket gikk det mot en dominans av alger > 20 µm i mesokosmeforsøket. Ved starten av mikrokosme-forsøket (for både LB og HB) ble det observert et planktonsamfunn av kjededannede diatomeer (typisk rundt 20 µm) som dominerte under hele forsøket. Fra midten av forsøkene ble konsentrasjonen av

DIN og DIP lave. En kombinasjon med nitrogenbegrensning for fytoplankton og en dominans av diatomeer er typisk for Comaufjorden (Olsen et al. 2014). Resultatene viste at konsentrasjonen av chl *a* < 2 µm i mesokosmetankene økte med minkende glukosetilsetning, noe som viste seg å være det motsatte i mikrokosmeforsøket der samme fraksjon økte med økende glukosetilsetning.

Den totale konsentrasjonen av chl *a* var høyest i mikrokosmeforsøket (gjennomsnitt 27,1 og 33,1 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for LB og HB), sammenlignet med mesokosmeforsøket (gjennomsnitt 4,01 og 4,58 µg chl *a* l<sup>-1</sup> for LB og HB). Et gjennomsnitt på rundt 30 µg chl *a* l<sup>-1</sup> var en høy konsentrasjon, og høyest konsentrasjon målt for mikrokosmeforsøket var så høyt som 88 µg chl *a* l<sup>-1</sup> (for mesokosmeforsøket var høyeste 37 µg chl *a* l<sup>-1</sup>). Jensen (2014) gjorde lignende eksperiment i samme område, der høyeste konsentrasjon var 19,3 µg chl *a* l<sup>-1</sup>. Også Grob et al. (2004) gjorde lignende eksperiment i området, og konkluderte med at høyere chl *a* konsentrasjoner kunne forekomme dersom det var en høyere andel av større alger. I følge Stibor et al. (2004) kan store alger utkonkurrere de små algene når næringssaltene blir begrensede.

Celletettheten for PCY i mesokosmeforsøket var tre ganger så høyt som for mikrokosmeforsøket (*Figur 4.12* og *Figur 4.25*). Det ble observert at i mesokosmeforsøket inneholdt PCY lite pigmenter sammenlignet med mikrokosmeforsøket der PCY hadde mye pigmenter (*Figur 5.1*). Forklaringen kan ligge i de ulike lysforholdene, der mesokosmetankene hadde naturlige lysforhold og mikrokosmetankene hadde simulerte lysforhold. Celletettheten for BAK var i gjennomsnitt høyere i mesokosmeforsøket enn i mikrokosmeforsøket (*Figur 4.12* og *Figur 4.25*). Celletettheten for BAK var høyere sammenlignet med celletettheten for PCY for både mesokosme- og mikrokosmeforsøket. Forklaringen kan ligge i hvilke ressurser de trenger. PCY benytter seg av lys og næringssalter og BAK benytter seg av DOC og næringssalter (Church 2008). I tillegg vil størrelsen av de ulike gruppene også ha noe å si. BAK er mindre enn PCY (rundt 0,12 og 1,1 µm<sup>3</sup>, henholdsvis), som betyr at BAK har et større areal til volum forhold. Dette gjør BAK til sterke konkurrenter mot PCY. Da BAK kan være DOC-begrenset viste forsøket at BAK vokste raskere dess mer karbon som ble tilført systemet. Dette førte til at næringssaltene ble brukt opp raskere (*Figur 4.6* og *Figur 4.19*). På slutten av forsøkene var det noen tanker med lav glukosetilsetning som viste en økning i celletetthet av PCY (for mikrokosme) og BAK (for mesokosme og mikrokosme). For mikrokosmene ble det observert en høyere økning av PCY enn BAK i tankene med < 2C, som kan tyde på at PCY vinner konkurransen om næringssalter når det er lite glukose tilgjengelig, på grunn av at BAK er DOC-begrenset.

FDC-verdiene ble brukt som et direkte mål på veksthastigheter for PCY (*Ligning 3*, *Ligning 4* og *Ligning 6*). Noen av fordelene med å bruke FDC er at enkeltceller av PCY lett kan observeres med epifluorescens mikroskop og celledelingen er synlig, samt at estimeringen er spesifikk for slekten *Synechococcus* (Campbell & Carpenter 1986). Tellingene kan gjøres fra fiksert materiale, så en umiddelbar analyse er ikke nødvendig.  $\mu_{PCY}$  var i gjennomsnitt høyere for mikrokosmeforsøket enn i mesokosmeforsøket (*Figur 4.15* og *Figur 4.28*). Hverken økt glukose eller høy biomasse av KOP hadde effekt på  $\mu_{PCY}$ , som gjaldt for begge forsøkene. Sundt-Hansen et al. (2006) utførte en studie som viste at det var kopepodene som bestemte utviklingen av PCY heller enn tilførselen av næringsalter.

Leucin-inkorporering ble brukt for å beregne  $\mu_{BAK}$  (*Ligning 4* og *Ligning 7*), som i gjennomsnitt var like for begge forsøkene (*Figur 4.16* og *Figur 4.29*). Unntaket var HB for mikrokosmeforsøket som viste en  $\mu$  som var dobbelt så høyt enn i LB. Dette kan tyde på at BAK hadde gode vekstforhold, og at remineraliseringen av næringsalter og produksjon av DOM var høyt nok til å opprettholde god vekst. Samtidig var tapet høyt, da en høy biomasse av KOP fjernet beitetrykket på HNF ved å beite på CIL. Som forventet viste en økt tilsetning av glukose positiv effekt på  $\mu_{BAK}$  (for mesokosmeforsøket).

Da vi mislyktes med å lage to ulike tettheter av KOP, økte tettheten av CIL i stedet for å minke ved en økt tilsetning av KOP. Vi hadde bare tre datapunkter for CIL, dag 1, 4 og 6 for mesokosme og dag 2, 4 og 8 for mikrokosme. På grunn av få datapunkter var det vanskelig å konkludere noe om hvordan CIL ble påvirket eller hvordan de påvirket andre grupper. *Figur 4.11* og *Figur 4.24* indikerer at CIL økte med økt tilsetning av glukose, som også Jensen (2012) fant. I samme studie ble det rapportert en maksimumstetthet på 91 individer  $\text{ml}^{-1}$  etter 16 dager. I våre forsøk ble det observert en maksimumstetthet på over 230 individer  $\text{ml}^{-1}$  etter 6 dager (HB i mesokosmeforsøket). Slike forekomster er ikke registrert i disse områdene før, og dette er høyt over gjennomsnittet (1-10  $\text{ml}^{-1}$ ) for kysttempererte marine miljøer (Montagnes & Lessard 1999). Under oppblomstringen av ciliater er det rapportert om tettheter opptil  $1,2 \cdot 10^3$  celler  $\text{ml}^{-1}$  (Pierce & Turner 1992). For mikrokosmeforsøket var maksimumstettheten på oppimot 10 individer  $\text{ml}^{-1}$  i LB. Dette er mer normale verdier. En studie gjort av Vargas & Martinez (2009) registrerte tetthet av ciliater mellom 0-18 individer  $\text{ml}^{-1}$  i Chilenske fjorder.

### 5.3 Vekstbegrensende faktorer; bottom-up kontroll

For å få en forståelse om interaksjonene mellom de ulike mikrobielle funksjonelle rollene i et næringsnett er det viktig å vurdere de vekstbegrensede faktorer. Potensielle faktorer som ble vurdert som vekstbegrensede for PCY og BAK var basert på konsentrasjon av DIN og DIP, samt glukose. Det ble ikke gjort målinger for ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), og målingene for løst organisk karbon (DOC) var dårlige og kunne ikke brukes til videre analyse. Da karbon ikke ble målt og fosfatet aldri ble oppbrukt, ble det antatt at nitrogen i dette tilfellet var det som begrenset vekst. En høyere glukosetilførsel førte til en raskere utarming av DIN og DIP. Fosfatet varierte mellom 0,2 og 0,8  $\mu\text{M}$  for mesokosmeforsøket og mellom 0,1 og 0,5 for mikrokosmeforsøket (*Figur 4.4* og *Figur 4.17*). Fra tidligere studier vet vi at en fosfatkonsentrasjon på 0,25  $\mu\text{M}$  kan opprettholde betydelig produksjon (Olsen et al. 2002). Nitratet ble raskt oppbrukt, spesielt i tankene  $\geq 2\text{C}$ , og ble raskt begrenset for begge forsøkene. Begrensning av nitrogen er vanlig i marine systemer (Elser et al. 2007).

Fjordområdene i den sørlige delen av Chile er karakterisert med lav  $\text{NO}_3:\text{PO}_4$  i overflatevannet, som betyr at en begrensning av nitrat er realistisk (Iriarte et al. 2007, 2013). Konsentrasjonene av DIN og DIP besto av to faser; en akkumulering i første halvdel av forsøkene, og en rask nedgang fra midten og ut forsøkene, som var tydeligst i mesokosmeforsøket. Akkumuleringen kan i første omgang forklares ved at ammonium ble brukt opp før nitrat. To andre faktorer som kan ha påvirket akkumuleringen av DIN var veksten til PCY og BAK stoppet opp (på grunn av begrensede næringssalter) og at predatorene vokste og beitet på PCY og BAK. PCY og BAK hadde en responstid på to-tre dager, og predatorene hadde en lengere responstid (tre til fem dager). Da BAK viste høyest vekst med økt glukosetilsetning ble tankene  $\geq 2\text{C}$  tom for næringssalter først, og det ble antatt at når nitratkonsentrasjonen var lav var konsentrasjonen av ammonium også lav. På slutten av forsøkene ble det observert at noen tanker viste en tendens til økning av DIN. Da ammonium ikke ble målt, kan vi bare anta at  $\text{NH}_4^+$  ble frigjort og tilbakeført til systemet ved degradering av celler som kan være årsaken til økningen (Thamdrup & Dalsgaard 2008).

#### 5.4 Predatorene og beiting; top-down kontroll

I mange tilfeller kan det være mer riktig å se på sammensetningen og biomassen av KOP heller enn antall. Det ble observert en god tilvekst av små KOP for begge forsøkene, samt at de som var små i utgangspunktet utviklet seg til voksne stadier. Det ble observert store *Paracalanus parvus* i HB-tankene. De store KOP kan ha påvirket beitehastigheten (dermed også tapsraten) da de har en høyere beitehastighet enn mindre KOP (Gismervik et al. 1996; Hansen et al. 1997). I tillegg er det viktig å tenke på tidsperspektivet. Våre forsøk varte i underkant av to uker hver. KOP utøvde direkte og indirekte predasjon, men to uker kan være for kort tid til at store predatorene rekker å øke biomassen (Gismervik et al. 2002; Vadstein et al. 2004; Olsen et al. 2006). Ved starten av mikrokosmeforsøket (for både LB og HB) ble det observert et planktonsamfunn dominert av kjededannede diatomeer (typisk rundt 20 µm). En kombinasjon med nitrogenbegrensning for fytoplankton og en dominans av diatomeer er typisk for Comaufjorden (Olsen et al. 2014). En reduksjon i biomassen av KOP burde gi en positiv effekt i form av økende biomasse hos større alger og negativ effekt i form av høyere tapsrate på mindre alger. Det er mer CIL tilstede som kan beite på de små algene. En motsatt effekt vil forekomme med en økning i biomassen av KOP, da KOP selektivt kan beite på enten store alger og/eller CIL (Stibor et al. 2004). I følge Sommer et al. (2005) beiter små calanoide kopepoder på de store kjededannede diatomeene (> 20 µm) og CIL.

Pengerud et al. (1987) utførte flere forsøk med ulike sammensetninger av funksjonelle grupper for å observere interaksjoner og konkurranser. Når alger, bakterier og flagellater ble satt sammen, var det en konkurranse om fosfor mellom algene og bakteriene. Algene klarte å etablere seg bra, fordi beiting på bakteriene fra flagellatene holdt bakterietetthetene lave, slik at algene kunne ta opp næringssaltene uten sterk konkurranse. En kombinasjon av lav bakterietetthet og lav bakteriell spesifikk veksthastighet resulterte i en lavere bakteriell aktivitet, som førte til begrenset degradering av glukose. I våre forsøk viste det seg at ved høy glukose klarte både PCY og BAK seg bra, som kan bety at BAK blir beitet på slik at PCY kan benytte seg av næringssaltene uten den sterke konkurransen fra BAK. Økningen av BAK ble forventet å føre til en økt tetthet av HNF og CIL (da disse beiter på BAK). Samtidig blir det en økt konkurranse for begrensede næringssalter mellom BAK og PCY, en konkurranse som PCY ble forventet å tape da BAK er overlegne konkurrenter. Men tettheten for PCY økte i stedet for å minke. Predatorene studert her ser ut til å beite på både PCY og BAK, noe som er vanlig i naturlige systemer (Goldman & Caron 1985). HNF beiter helst på PCY og i et system der det er mye KOP som beiter på CIL (og ikke på HNF) kan HNF beite på både PCY og BAK.

Celletettheten for HNF var i gjennomsnitt åtte ganger høyere i mikrokosmeforsøket enn mesokosmeforsøket (*Figur 4.12* og *Figur 4.25*), og viste en klar trend med økende celledetthet med økende glukosetilsetning for både LB- og HB-tankene. Dette betyr at i tankene med  $\geq 2C$  var det store mengder HNF, som kunne beite på PCY og BAK. Det viste seg at HB-tankene hadde en høyere tetthet enn i LB-tankene, som kan indikere på at KOP utøver stort beitepress på CIL. Da CIL beiter på partikler i nanostørrelsen (som HNF og små alger) betyr dette at mengden HNF vil øke og at beitetrykket på BAK, og til dels på PCY, ville øke (Sommer et al. 2005). Studier har bekreftet at HNF er betydningsfulle bakterivore flagellater som er tilpassede beitere på BAK og som potensielt kan kontrollere bakterievekst (Fenchel 1982; Siebhurt 1984).

Konsentrasjonen av CIL var i gjennomsnitt 10-20 ganger så høy for mesokosmeforsøket sammenlignet med gjennomsnittet i mikrokosmeforsøket. Dette kan tyde på at KOP ikke hadde stor nok tetthet til å kontrollere veksten av CIL i mesokosmeforsøket. For mikrokosmeforsøket virket det som om CIL aldri nådde høye tettheter, som kan tyde på at KOP hadde en viss beitekontroll på CIL. KOP og CIL er størrelses-selektive når de velger bytte. CIL beiter i hovedsak på små alger (Johnson 1986), og KOP beiter på større alger og CIL (Stoecker & Capuzzo 1990; Irigoien et al. 2000). I tillegg beiter CIL på HNF. For HB var det dermed forventet at tettheten av HNF ville øke, da CIL som beiter på HNF blir spist av KOP. Dette var ikke tilfellet for mesokosmeforsøket, men for mikrokosmeforsøket var det en signifikant forskjell mellom LB og HB (parvis t-test  $p = 0,017$ ). En høy tetthet av HNF betyr høyere beitepress på PCY og BAK. CIL og HNF beiter begge på PCY og konkurranse kan oppstå. Konkurransen kan derimot utebli da CIL heller kan velge å spise nanoalger og HNF kan velge å spise BAK. Det ble observert en lavere tetthet av HNF i tankene med  $< 2C$ , som kan bety at CIL har en viss beitekontroll på HNF i disse tankene.

Tapsraten for PCY,  $t_{PCY}$ , var i gjennomsnitt dobbelt så høyt i mikrokosmeforsøket enn i mesokosmeforsøket (*Figur 4.15* og *Figur 4.28*). Hverken glukosegradienten eller høy biomasse av KOP hadde betydelig effekt. For mesokosmeforsøket var veksten i gjennomsnitt noe høyere enn tapet, som tydet på høyere tilvekst av PCY enn tap. For mikrokosmeforsøket derimot var veksten i gjennomsnitt lavere enn tapet, noe som resulterte i en negativ endringsrate. Det betyr at det var et høyere tap av celler enn tilvekst. Tapsraten for BAK,  $t_{BAK}$ , var i gjennomsnitt lik for LB og HB for mesokosmeforsøket, og over dobbelt så høyt for HB enn LB i mikrokosmeforsøket (*Figur 4.16* og *Figur 4.29*). Glukosegradienten hadde en positiv effekt i mesokosmeforsøket, og høy biomasse av KOP viste positiv effekt i mikrokosmeforsøket. For begge forsøkene var  $\mu$  i gjennomsnitt lavere enn  $t$ , som ga en negativ endringshastighet. Flere



celler gikk tapt enn det vokste til. Dette kan forklares med tapt konkurranse med PCY om næringssalter i kombinasjon med beiting fra HNF. Mye av netto endring av veksthastighet kan forklares med taphastigheten.

Generelt for mesokosmeforsøket var det kun celledettheten av BAK som reagerte positivt på økt kopepodebiomasse, og en økt glukosetilsats førte til økt tetthet av BAK og HNF, samt nedgang i konsentrasjon av DIN, DIP og chl *a*. Generelt for mikrokosmeforsøket viste celledettheten av BAK og HNF en positiv reaksjon på økt kopepodebiomasse, og en økt glukosetilsats førte til økt tetthet av PCY, BAK og HNF, samt en nedgang i konsentrasjon av DIN, DIP og total chl *a*. For vekst-, taps- og endringsratene var det kun BAK i mikrokosmeforsøket som ble påvirket av økt predasjon fra kopepodene. Økt glukosetilsats førte til positiv effekt for  $\mu$  og  $t$  for BAK i mesokosmeforsøket, og negativ  $r$  for BAK i mikrokosmeforsøket. Den positive responsen i celledettheten for BAK og HNF (samt PCY for mikrokosmeforsøket) med økende glukosegradient funnet i dette studiet (*Tabell 4.4* og *Tabell 4.9*) indikerer at KOP ikke klarte å kontrollere tettheten av ciliatene.

## 6 Konklusjon

Forventingene var at en økt kopepodebiomasse ville påvirke veksten av PCY og BAK, der PCY var forventet å øke og BAK forventet å minke. Våre resultater viste derimot at PCY var upåvirket og at celledettheten av BAK økte. Samtidig var det forventet at en økt glukosetilsetning ville føre til økt celledetthet av BAK, HNF og CIL, og at PCY ville minke. Et høyt beitepress av både HNF og CIL kan føre til lav vekst av PCY. Resultatene våre viste en økt tetthet av BAK og HNF, samt en økt tetthet av PCY (i mikrokosmeforsøket). Konsentrasjonen av chl *a* ble positivt påvirket av høy kopepodebiomasse i mikrokosmeforsøket, og en økt glukosetilsats viste negativ effekt i både mesokosme- og mikrokosmeforsøket. Da karbon ikke ble målt, ble det antatt at nitrogen i dette tilfellet var det som begrenset vekst. Fosfat ble aldri oppbrukt, noe som var tilfellet for nitrat. Den økte predasjonen fra kopepodene klarte delvis å påvirke veksten i bunnen av næringsnett (PCY og BAK), som betyr at det heller var andre faktorer som påvirket. Den høye tettheten av ciliater (for meskosmeforsøket) kan indikere at ciliatene kan ha en viktigere rolle i det marine næringsnett i Comaufjorden enn først antatt.

Generelt er det utfordrende å simulere et naturlig marint økosystem. Det kan være viktig å huske på at de faktorene representert i dette studiet kanskje bare responderer slik de gjør i lukkede systemer, og ikke ville respondert likt i naturlige økosystem. Men det er gjort mange studier på området, og mange knyttes opp mot det som foregår naturlig. Dersom predasjonen på bakteriene er høy og vedvarende, kan algene benytte seg av begrensede næringssalter uten stor konkurranse fra bakteriene. Men dersom en større predator beiter både på algene og heterotrofe flagellater, vil de fjerne noe av både predasjonstrykket og konkurransen som er direkte på bakteriene. Innsamling og kvantifisering av kopepoder er en tidskrevende prosess og veldig stressfullt for dyreplanktonet. For en optimal justering av predasjonstrykk og for å hindre tap av kopepoder, anbefales det derfor å heller fjerne kopepodene heller enn å tilsette ekstra.

Studiet viser at total celledetthet kvantifisert med FCM er en enkelt, rask, sensitiv og deskriptiv måte å analysere vannprøver.



## Referanser

- Agawin, N. S. R., Duarte, C. M., Agustí, S. (1998) Growth and abundance of *Synechococcus* sp. in a Mediterranean Bay: seasonality and relationship with temperature. *Marine Ecology Progress Series*, 170: 45-93.
- Aksnes, D. L. & Cao, F. J. (2011) Inherent and apparent traits in microbial nutrient uptake. *Marine Ecology Progress Series*. 440: 41-51.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gray, J. S., Meyer-Reil, L., Thingstad, F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*. 10: 257-263.
- Bailey, J. E., Fazel-Makjlessi, J., McQuitty, D. N., Lee, Y. N., Allred, J. C., Oro, J. A. (1977) Characterization of bacterial growth by means of flow microfluorometry. *Science*. 198: 1175-1176
- BD Accuri C6<sup>®</sup> Flow Cytometer brukerbok, *BD CSampler<sup>TM</sup> Software User Guide* hentet 30.11.2016 fra [http://research.med.helsinki.fi/corefacilities/facs/Instruments/BD\\_Accuri\\_CSampler\\_Software\\_User\\_Guide.pdf](http://research.med.helsinki.fi/corefacilities/facs/Instruments/BD_Accuri_CSampler_Software_User_Guide.pdf)
- Breidbart, M., Middelboe, M., Rohwer, F. (2008) Marine viruses: community dynamics, diversity and impact on microbial processes. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the ocean*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 443-479.
- Campbell, L. & Carpenter, E. J. (1986) Diel patterns of cell division in marine *Synechococcus* spp. (Cyanobacteria): use of the frequency of dividing cells technique to measure growth rate. *Marine Ecology – Progress Series*. 32: 139-148.
- Chase, J. M. (1999) Food web effects of prey size refugia: variable interactions and alternative stable equilibria. *The American Naturalist*. 154: 559-570.
- Chisholm, S. W., Olson, R. J., Zettler, E. R., Goericke, R., Waterbury, J. B., Welschmeyer, N. A. (1988) A novel free-living prochlorophyte occurs at high cell concentration in the oceanic euphotic zone. *Nature*. 334: 340-343.
- Christaki, U., Jacquet, S., Dolan, J., Vaultot, D., Rassoulzadegan, F. (1999) Growth and grazing on *Prochlorococcus* and *Synechococcus* by two marine ciliates. *Limnology and Oceanography*. 44: 52-61.
- Christaki, U., Courties, C., Massana, R., Catala, P., Lebaron, P., Gasol, J. M., Zubkov, M. V. (2011) Optimized routine flow cytometric enumeration of heterotrophic flagellates using SYBR Green I. *Limnology and Oceanography: Methods*. 9: 329-339.
- Church, M. J. (2008) Resource control of bacterial dynamics in the sea. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the ocean*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 335-382.
- Cloern, J. E. (2001) Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series*. 210: 223-253.
- Dolan, J. R. & Šimek, K. (1999) Diel periodicity in *Synechococcus* populations and grazing by heterotrophic nanoflagellates: analysis of food vacuole contents. *Limnology and Oceanography*. 44: 1565-1570.

- Elser, J. J., Bracken, M. E. S., Cleland, E. E., Gruner, D. S., Harpole, W. S., Hillebrand, H., Ngai, J. T., Seabloom, E. W., Shurin, J. B., Smith, J. E. (2007) Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. 10: 1135-1142.
- Fauchald, K. & Jumars, P.A. (1979) A diet of worms: A study of polychaete feeding guilds. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. 17: 193-289.
- Fenchel, T. (1982) Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers *Marine Ecology Progress Series*. 9: 35-42.
- Giovannoni, S. & Rappé, M. (2000) Evolution, diversity, and molecular ecology of marine prokaryotes. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 47-84.
- Gismervik, I., Andersen, T., Vadstein, O. (1996) Pelagic food webs and eutrophication of coastal waters: impact of grazers on algal development. *Marine Pollution Bulletin*. 33: 22-35.
- Gismervik, I. & Andersen, T. (1997) Prey switching by *Acartia clausi*: experimental evidence and implication of intraguild predation assessed by a model. *Marine Ecology Progress Series*. 157: 247-259.
- Gismervik, I., Olsen, Y., Vadstein, O. (2002) Micro- and mesozooplankton response to enhanced nutrient input – a mesocosm study. *Hydrobiologia*. 484: 75-87.
- Goldman, J. C., Caron & Caron, D. A. (1985) Experimental studies on an omnivorous microflagellate: Implications for grazing and nutrient regeneration in the marine food chain. *Deep Sea Research*. 8: 899-915.
- Green, R. E., Sosik, H. M., Olson, R. J., DuRand, M. D. (2003) Flow cytometric determination of size and complex refractive index for marine particles: comparison with independent and bulk estimates. *Applied Optics*. 42: 526-541.
- Grob, C., Ulloa, O., Li, W. K. W., Alarcón, G., Fukasawa, M., Watanabe, S. (2004) Picoplankton abundance and biomass across the eastern South Pacific Ocean along latitude 32.5°S. *Marine Ecology Progress Series*. 332: 53-62.
- Hairton, N. G., Smith, F. E., Slobodkin, L. B. (1960) Community structure, population control, and competition. *The American Naturalist*. 94: 421-425.
- Hansen, B., Bjørnsen, P. K., Hansen, P. J. (1994) The size ratio between planktonic predators and their prey. *Limnology and Oceanography*. 39: 395-403.
- Hansen, B., Bjørnsen, P. K., Hansen, P. J. (1997) Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2-2000 µm body size range. *Limnology and Oceanography*. 42: 687-704.
- Harris, G. P. (1980) Temporal and spatial scales in phytoplankton ecology. Mechanisms, methods, models, and management. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 37: 879-900.
- Hedges, J. I. (2002) Why dissolved organics matter. I bok: Hansell, A., Carlson, C. A. (eds), *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press, Amsterdam, s. 1-33.
- Hood, R. R., Laws, E. A., Armstrong, R. A., Bates, N. R., Brown, C. W., Carlson, C. A. og 13 til (2006) Pelagic functional group modeling: Progress, challenges and prospects. *Deep-Sea Research II*. 53: 459-512.

- House, J. I., Prentice, I. C., Le Quéré, C. (2002) Maximum impacts of future reforestation or deforestation on atmospheric CO<sub>2</sub>. *Global Change Biology*. 8: 1047-1052.
- Iriarte, J. L., Gonzáles, H. E., Liu, K. K., Rivas, C., Valenzuela, C. (2007) Spatial and temporal variability of chlorophyll and primary productivity in surface waters of southern Chile (41.5-43°S). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 74: 471-480.
- Iriarte, J. L., Pantoja, S., Gonzáles, H. E., Silva, G, Paves, H., Labbé, P., Rebolledo, L., Van Ardelan, M., Häussermann, V. (2013) Assessing the micro-phytoplankton response to nitrate in Comau Fjord (42°S) in Patagonia (Chile), using a microcosms approach. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185: 5055-5070.
- Irigoién, X., Head, R. N., Harris, R. P., Cummings, D., Harbour, D., Meyer-Harms, B. (2000) Feeding selectivity and egg production of *Calanus helgolandicus* in the English Channel. *Limnology and Oceanography*. 45: 44-54.
- Jahan, N., Alam, M. G. M., Sugiura, N., Norman, C. P., Maekawa, T. (2001) Seasonal variation in frequency of dividing cells of freshwater phytoplankters. *Environmental Technology*. 22: 429-438.
- Jensen, I. N. (2012) The effect of nutrient release from fish farms on the lower trophic levels of the marine food web in North Patagonia, Chile. *Norwegian University of Science and Technology, Department of Biology*.
- Johnson, P. W. & Siebhurt, J. M. N. (1979) Chroocoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnology and Oceanography*. 24: 928-935.
- Jonsson, P. R. (1986) Particle size selection, feeding rates and growth dynamics of marine planktonic oligotrichous ciliates (Ciliophora, Oligotrichina). *Marine Ecology Progress Series*. 33: 265-277.
- Jürgens, K. & Massana, R. (2008) Protistan grazing on marine bacterioplankton. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the ocean*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 383-441.
- Kaiser, M. J., Attrill, M. J., Jennings, S., Thomas, D. N., Barnes, D. K. A., Brierley, A. S., Hiddink, J. G., Kaartokallio, H., Polunin, N. V. C., Raffaelli, D. G. (2012) Marine ecology: processes, systems and impacts. Oxford University Press, Oxford, NY.
- Kirchman, D. L. (1993) Leucine Incorporation as a Measure of Biomass Production by Heterotrophic Bacteria. I bok: Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J. (eds.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton: FL, s. 509-512.
- Larsen, A., Egge, J. K., Nejtgaard, J. C., Di Capuna, I., Thyrraug, R., Bratbak, G., Thingstad, F. (2015) Contrasting response to nutrient manipulation in Arctic mesocosms are reproduced by a minimum microbial food web model. *Limnology and Oceanography* 60: 360-374.
- Le Quéré, C., Harrison, S. P., Prentice, C. I., Buitenhuis, E. T., Aumonts, O., Bopp, L., og 14 andre (2005) Ecosystem dynamics based on plankton functional types for global ocean biogeochemistry models. *Global Change Biology*. 1: 2016-2040.
- Lebaron, P., Parthuisot, N., Catala, P. (1998) Comparison of blue nucleic acid dyes for flow cytometric enumeration of bacteria in aquatic systems. *Applied and Environmental Microbiology*. 64: 1725-1730.

- Lebaron, P., Servais, P., Bauddoux, A.-C., Bourrain, M., Courties, C., Parthuisot, N. (2002) Variations of bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. *Aquatic Microbial Ecology*. 2: 131-140.
- Leibold, M. A. (1996) A graphical model of keystone predators in food webs: trophic regulation of abundance, incidence and diversity patterns in communities. *The American Naturalist*. 147: 784-812.
- Li, W. K. W. & Platt, T. (1987) Photosynthetic picoplankton in the ocean. *Science Progress*. 71: 117-132.
- Maclsaac, E. A., & Stockner, J. G. (1993) Enumeration of Phototrophic Picoplankton by Autofluorescence Microscopy. I bok: Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J. (eds.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton: FL, s. 187-197.
- Marie, D., Simon, N., Vaulot, D. (2005) Phytoplankton cell counting by flow cytometry. *Algal Culturing Techniques*, Academic Press.
- Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S., Vaulot, D. (1997) Enumeration and cell cycle analysis of natural populations of marine picoplankton by flow cytometry using the nucleic acid stain SYBR Green I. *Applications in Environmental Microbiology*. 63: 186-93.
- Montagnes, D. J. S. & Lessard E. J. (1999) Population dynamics of the marine planktonic ciliate *Strombidinopsis multiauris*: its potential to control phytoplankton blooms. *Aquatic Microbial Ecology*. 20: 167-181.
- Moon-van der Staay, S. Y., Wachter, R. D., Vaulot, D. (2001) Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*. 409: 607-610.
- Morel, A. (1991) Optics of marine particles and marine optics. I bok: Demers, S., (ed), *Particle Analysis in Oceanography*. Springer-Verlag, New York, s. 142-188.
- Nair, A., Sathyendranath, S., Platt, T., Morales, J., Stuart, V., Forget, M.-H., Devred, E., Bouman, H. (2008) Remote sensing of phytoplankton types. *Remote Sensing of Environment*. 112: 3366-3375.
- Oksanen, L., Fretwell, S. D., Arruda, J., Niemelä, P. (1981) Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. *The American Naturalist*. 118: 240-261.
- Olsen, Y., Augusti, S., Andersen, T., Duarte, C. M. og 13 andre (2006) A comparative study of responses in planktonic food web structure and function in contrasting European coastal waters exposed to experimental nutrient addition. *Limnology and Oceanography*. 51: 488-503.
- Olsen, Y., Andersen, T., Gismervik, I., Vadstein, O. (2007) Protozoan and metazoan zooplankton-mediated carbon flows in nutrient-enriched coastal planktonic communities. *Marine Ecology Progress Series*. 331: 67-83.
- Olsen, L. M., Hernández, K. L., Van Ardelan, M., Iriarte, J. L., Sánchez, N., González, H. E., Tokle, N., Olsen, Y. (2014) Responses in the microbial food web to increased rates of nutrient supply in a southern Chilean fjord: possible implication of cage aquaculture. *Aquaculture Environment Interactions*. 6: 11-27.
- Olsen, L. M., Reinertsen, H., Vadstein, O. (2002) Can phosphorous limitation inhibit dissolved organic carbon consumption in aquatic microbial food webs? A study of three food web structures in microcosms. *Microbial Ecology*. 43: 353-366.

- Olson, R. J., Vaultot, D., Chisholm, S. W. (1985) Marine phytoplankton distributions measured using shipboard flow cytometry. *Deep-Sea Research*. 32: 1273-1280.
- Olson, R. J., Zettler, E. R., DuRand, M. D. (1993). Phytoplankton analysis using flow cytometry. I bok: Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J. (eds.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton: FL, s. 175-186.
- Paau, A. S., Cowles, J. R., Oro, J. (1977) Flow-microfluorometric analysis of *Escherichia coli*, *Rhizobium meliloti*, and *Rhizobium japonicum* at different stages of the growth cycle. *Canadian Journal of Microbiology*. 23: 1165-1169.
- Parsons, T. R., Maita, Y., Lalli C. M. (1984) A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamin Press, Oxford.
- Pengerud, B., Skjoldal, E. F., Thingstad, F. (1987) The reciprocal interaction between degradation of glucose and ecosystem structure. Studies in mixed chemostat cultures of marine bacteria, algae, and bacterivorous nanoflagellates. *Marine Ecology Progress Series*. 35: 111-117.
- Perkins, F. O., Haas, L. W., Phillips, D. E., Webb, K. L. (1981) Ultrastructure of a marine *Synechococcus* possessing spinae. *Canadian Journal of Microbiology*. 27: 318-329.
- Pierce, R. W. & Turner, J. T. (1992) Ecology of planktonic ciliates in marine food webs. *Review in Aquatic Sciences*. 6: 139-181.
- Rivkin, R. & Anderson M. (1997) Inorganic nutrient limitation of oceanic bacterioplankton. *Limnology and Oceanography*. 42: 730-740.
- Rose, J. M., Caron, D. A., Sieracki, M. E., Poulton, N. (2004) Counting heterotrophic nanoplanktonic protists in cultures and aquatic communities by flow cytometry. *Aquatic Microbial Ecology*. 34: 263-277.
- Sala, M. M., Peters, F., Gasol, J. M., Pedros-Alio, C., Marrase, C., Vaque, D. (2002) Seasonal and spatial variations in the nutrient limitation of bacterioplankton growth in the northwestern Mediterranean. *Aquatic Microbial Ecology*. 27: 47-56.
- Sathyendranth, S., Prieur, L., Morel, A. (1987) Variations in the spectral values of specific absorption of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*. 32: 403-145.
- Sherr, E. & Sherr B. (2008) Understanding roles of microbes in marine pelagic food webs: a brief history. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 27-44.
- Sherr, E. B., & Sherr, B. F. (1993) Preservation and Storage of Samples for Enumeration of Heterotrophic Protists. I bok: Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J. (eds.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton: FL, s. 207-212.
- Sherr, E. B., Sherr, B., Paffenhöfer, G. A. (1996) Phagotrophic protozoa as food for metazoans: a 'missing' trophic link in marine pelagic food webs? *Marine Microbial Food Webs*. 1: 61-81.
- Shurin, J. B., Borer, E. T., Seabloom, E. W., Anderson, K., Blanchette, C. A., Broitman, B., Cooper, S. D., Halpern, B. S. (2002) A cross-ecosystem comparison of the strength of trophic cascades. *Ecology Letters*. 5: 785-791.
- Siebhurt, J. M. (1984) Protozoan bacterivory in pelagic marine waters. I bok: Hobbie, J. E. & Williams, P. J. I. (eds.), *Heterotrophic Activity in the Sea*. Plenum Press, s. 405-444.



- Siebhurt, J. M., Smetacek, V., Lenz, J. (1978) Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*. 23: 1256-1263.
- Smayda, T. J. & Reynolds, C. S. (2003) Strategies of marine dinoflagellate survival and some rules of assembly. *Journal of Sea Research*. 49: 95-106.
- Smith, D. C., & Azam, F. (1992) A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using tritiated-leucine. *Marine Microbial Food Webs*. 6: 107-114.
- Sommer, U. (1985) Comparison between steady state and non-steady state competition: Experiments with natural phytoplankton. *Limnology and Oceanography*. 30: 335-346.
- Sommer, U. & Stibor, H. (2002) Copepoda – Cladocera – Tunicata: The role of three major mesozooplankton groups in pelagic food webs. *Ecological Research*. 17: 161-174.
- Sommer, U., Hansen, T., Blum, O., Holzner, N., Vadstein, O., Stibor, H. (2005) Copepod and microzooplankton grazing in mesocosms fertilized with different Si: N ratios: no overlap between food spectra and Si: N influence on zooplankton trophic level. *Oecologia*. 142: 274-283.
- Steiner, C. F. (2001) The effects of prey heterogeneity and consumer identity on the limitation of trophic-level biomass. *Ecology*. 82: 2495-2506.
- Stibor, H., Vadstein, O., Diehl, S., Gelzleichter, A. og 10 andre (2004) Copepods act as a switch between alternative trophic cascades in marine pelagic food webs. *Ecology Letters*. 7: 321-328.
- Stockner, J. G. (1988) Phototrophic picoplankton: an overview from marine and freshwater ecosystem. *Limnology and Oceanography*. 33: 765-775.
- Stoecker, D. K. & Capuzzo, J. M. (1990) Predation on protozoa – its importance to zooplankton. *Journal of Plankton Research*. 12: 891-908.
- Sundt-Hansen, L., Olsen, Y., Stibor, H., Heldal, M., Vadstein, O. (2006) Trophic cascades mediated by copepods, not nutrient supply rate, determine the development of picocyanobacteria. *Aquatic Microbial Ecology*. 45: 207-218.
- Šimek, K., Macek, M., Pernthaler, J., Straskrabova, V., Psenner, R. (1996) Can freshwater ciliates survive on a diet of picoplankton? *Journal of Plankton Research*. 18: 597-613.
- Tarran, G. A., & Bruun, J. T. (2015) Nanoplankton and picoplankton in the Western English Channel: Abundance and seasonality from 2007-2013. *Progress in Oceanography*. 137: 446-455.
- Thamdrup, B. & Dalsgaard, T. (2008) Nitrogen cycling in sediment. I bok: Kirchman, D. L. (ed) *Microbial ecology of the ocean*. Wiley-Liss, Hoboken, NJ, s. 527-568.
- Thingstad, T. F. & Lignell, R. (1997) Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquatic Microbial Ecology*. 13: 19-27.
- Thingstad, T. F., Hagström, Å., Rassoulzadegan, F. (1997) Export of degradable DOC from oligotrophic surface waters: caused by a malfunctioning microbial loop? *Limnology and Oceanography*. 42: 398-404.

- Thingstad, T. F., Havskum, H., Zweifel, U. L., Berdalet, E., Sala, M. M., Peters, F., Alcaraz, M., Scharek, R., Perez, M., Jacquet, S., Flaten, G. A. F., Dolan, J. R., Marassè, C., Rassoulzadegan, F., Hagstrøm, Å., Vaulot, D. (2007) Ability of a “minimum” microbial food web model to reproduce response patterns observed in mesocosms manipulated with N and P, glucose, and Si. *Journal of Marine Systems* 64: 15-34.
- Tilman, D., Kilham, S. S., Kilham, P. (1982) Phytoplankton community ecology: The role of limiting nutrients. *Annual Reviews – Ecology, Evolution and Systematics*. 13: 349-372.
- Trask, B. J., van den Engh, G. J., Elgerhuizen, J. H. B. W. (1982) Analysis of phytoplankton by flow cytometry. *Cytometry* 2: 258-264.
- Vadstein, O. (2000) Heterotrophic, planktonic bacteria and cycling of phosphorus: phosphorus requirements, competitive ability and food web interactions. *Advances in Microbial Ecology*. 16: 115-168.
- Vadstein, O. (2011) Large variations in growth-limiting factors for marine heterotrophic bacteria in the Arctic waters of Spitsbergen (98<sup>0</sup>N). *Aquatic Microbial Ecology*. 63: 289-297.
- Vadstein, O., Stibor, H., Lippert, B., Løseth, K., Roederer, W., Sundt-Hansen, L., Olsen, Y. (2004) Moderate increase in the biomass of omnivorous copepods may ease grazing control of planktonic algae. *Marine Ecology Progress Series*. 270: 199-207.
- Vadstein, O., Andersen, T., Reinertsen, H. R., Olsen, Y. (2012) Carbon, nitrogen and phosphorus resource supply and utilisation for coastal planktonic heterotrophic bacteria in a gradient of nutrient loading. *Marine Ecology Progress Series*. 447: 55-75.
- Van Nevel, S., Koetzsc, S., Weilenmann, H.-U., Boon, N., Hammes, F. (2013) Routine bacterial analysis with automated flow cytometry. *Journal of Microbiological Methods*. 94: 73-76.
- Van Wambeke, F., Christaki, U., Giannokourou, A., Moutin, T., Souvemerzoglou, K. (2002) Longitudinal and vertical trends of bacterial limitation by phosphorous and carbon in the Mediterranean Sea. *Microbial Ecology*. 43: 119-133.
- Vargas, C. A. & Martinez, R. A. (2009) Grazing impact of natural populations of ciliates and dinoflagellates in a river-influenced continental shelf. *Aquatic Microbial Ecology*. 56: 93-108.
- Wang, Y., Hammes, F., De Roy, K., Verstraete, W., Boon, N. (2010) Past, present and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. *Trend in Biotechnology*. 28: 416-424.
- Waterbury, J. B., Watson, S. W., Guillard, R. R. L., Brand, L. E. (1979) Widespread occurrence of a unicellular, marine planktonic, cyanobacterium. *Nature*. 277: 293-294.
- Weisse, T. (1993) Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and freshwater ecosystems. *Advances in Microbial Ecology*. 13: 327-370.
- Yentsch, C. M., Horan, P. K., Muirhead, K., Dortch, Q., Haugen, E. M., Legendre, L., Murphy, L. S., Phinney, D., Pomponi, S. A., Spinrad, R. W., Wood, A. M., Yentsch, C. S., Zahurence, B. J. (1983) Flow cytometry and sorting: a powerful technique with potential applications in aquatic sciences. *Limnology and Oceanography*. 28: 1275-1280.



## Vedlegg

### Vedlegg A

Vedlegget inneholder rådata for celletetthet, frekvensen av delende celler (FDC), spesifikk veksthastighet ( $\mu$ ), tapshastighet ( $t$ ) og spesifikk endringshastighet ( $r$ ) for pikocyanobakterier (PCY) gjennom et døgn. Celletetthet er målt som  $\cdot 10^6$  celler  $l^{-1}$ , FDC er målt som %, og  $\mu$ ,  $t$  og  $r$  er målt som  $d^{-1}$  for lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose.

**Tabell A1:** Oversikt over celletetthet og FDC for PCY over et døgn, samt gjennomsnitt for to siste punkt, for mesokosmeforsøket.

Tidspunkt	PCY ( $10^6$ celler $l^{-1}$ )			PCY (FDC i %)		
	LB 0C	LB 1C	HB 2C	LB 0C	LB 1C	HB 2C
11.4.14 12:00	65,6	62,5	61,0	14,9	9,06	8,26
11.4.14 16:00	77,1	63,9	57,4	10,8	14,0	13,8
11.4.14 20:00	112	91,1	73,6	11,5	10,3	11,9
11.5.14 00:00	87,9	78,5	62,0	12,5	9,54	10,7
11.5.14 04:00	101	79,0	56,1	9,17	9,57	8,33
11.5.14 08:00	107	79,6	49,8	2,98	6,01	6,53
11.5.14 12:00	102	68,3	37,3	16,5	12,4	15,0
Gjennomsnitt to siste punkt	105	74,0	43,5	9,8	9,2	10,8

**Tabell A2:** Oversikt over  $\mu$ ,  $t$  og  $r$  for PCY over et døgn, samt gjennomsnitt, for mesokosmeforsøket.

Tidspunkt	PCY ( $\mu d^{-1}$ )			PCY ( $t d^{-1}$ )			PCY ( $r d^{-1}$ )		
	LB 0C	LB 1C	HB 2C	LB 0C	LB 1C	HB 2C	LB 0C	LB 1C	HB 2C
11.4.14 12:00	0,83	0,52	0,48	0,67	0,50	0,54	0,16	0,02	-0,06
11.4.14 16:00	0,62	0,79	0,77	0,25	0,43	0,52	0,37	0,35	0,25
11.4.14 20:00	0,66	0,59	0,67	0,89	0,73	0,85	-0,24	-0,15	-0,17
11.5.14 00:00	0,71	0,55	0,61	0,57	0,54	0,71	0,14	0,01	-0,10
11.5.14 04:00	0,53	0,55	0,48	0,46	0,54	0,60	0,06	0,01	-0,12
11.5.14 08:00	0,18	0,35	0,38	0,22	0,50	0,67	-0,05	-0,15	-0,29
11.5.14 12:00	0,92	0,70	0,84	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,64	0,58	0,60	0,51	0,54	0,65	0,07	0,02	-0,08

**Vedlegg B**

Vedlegget inneholder rådata for konsentrasjon av løst uorganisk nitrogen (DIN, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) og løst uorganisk fosfor (DIP, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) målt som µM for lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose. Tabell B1-B3 er for mesokosmeforsøket, og tabell B4-B6 er for mikrokosmeforsøket.

**Tabell B1:** Oversikt over konsentrasjonen av DIN fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	2,99	1,39	1,99	1,43	0,83	1,35	0,91	1,03	0,79	0,91
1	2,86	2,22	1,35	1,41	1,73	1,89	2,11	1,84	1,89	2,00
2	3,34	2,25	3,07	3,83	4,91	3,17	3,99	2,74	2,58	2,19
3	5,32	4,29	2,56	4,29	3,15	3,65	3,05	2,36	2,96	2,46
4	4,90	0,90	0,80	3,10	1,30	1,40	0,00	0,70	0,00	0,00
5	1,73	0,00	0,00	1,42	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	1,19	0,48	0,00	0,11	0,11	0,53	0,05	0,00	0,00	0,00
7	0,17	#I/T	#I/T	0,05	#I/T	0,17	0,00	0,23	#I/T	#I/T
8	0,06	#I/T	#I/T	0,73	#I/T	#I/T	0,01	0,78	#I/T	#I/T
9	0,07	#I/T	#I/T	2,41	#I/T	#I/T	0,47	0,68	#I/T	#I/T
10	0,00	#I/T	#I/T	1,81	#I/T	#I/T	0,00	0,00	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	2,06	1,65	1,40	1,87	1,73	1,52	0,96	0,94	1,17	1,08

**Tabell B2:** Oversikt over konsentrasjonen av DIP fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	0,53	0,28	0,31	0,38	0,40	0,49	0,44	0,43	0,50	0,53
1	0,62	0,42	0,47	0,53	0,50	0,61	0,62	0,60	0,50	0,55
2	0,72	0,49	0,55	0,67	0,68	0,55	0,70	0,52	0,58	0,57
3	0,81	0,59	0,49	0,70	0,56	0,54	0,46	0,58	0,31	0,39
4	0,78	0,53	0,46	0,71	0,61	0,57	0,43	0,48	0,27	0,35
5	0,68	0,54	0,39	0,69	0,55	0,51	0,39	0,45	0,29	0,36
6	0,55	0,47	0,46	0,65	0,50	0,41	0,32	0,39	0,28	0,23
7	0,44	#I/T	#I/T	0,57	#I/T	0,42	0,39	0,48	#I/T	#I/T
8	0,44	#I/T	#I/T	0,76	#I/T	#I/T	0,42	0,53	#I/T	#I/T
9	0,29	#I/T	#I/T	0,68	#I/T	#I/T	0,37	0,38	#I/T	#I/T
10	0,27	#I/T	#I/T	0,47	#I/T	#I/T	0,26	0,22	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,56	0,47	0,45	0,62	0,54	0,51	0,44	0,46	0,39	0,43

## Vedlegg

**Tabell B3:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm SE$ ) for dag 2 til dag 6 for løst uorganisk nitrogen (DIN) og løst uorganisk fosfor (DIP).

Mesokosme	Nitrat ( $\mu M$ )	Fosfat ( $\mu M$ )	Mesokosme	Nitrat ( $\mu M$ )	Fosfat ( $\mu M$ )
LB 0 C	3,30 $\pm$ 0,82	0,70 $\pm$ 0,05	HB 0 C	1,58 $\pm$ 0,77	0,52 $\pm$ 0,02
LB 0,5 C	1,29 $\pm$ 0,65	0,47 $\pm$ 0,03	HB 0,5 C	2,55 $\pm$ 0,78	0,68 $\pm$ 0,01
LB 1 C	1,91 $\pm$ 0,94	0,58 $\pm$ 0,03	HB 1 C	1,75 $\pm$ 0,72	0,52 $\pm$ 0,03
LB 2 C	1,42 $\pm$ 0,87	0,46 $\pm$ 0,06	HB 2 C	1,16 $\pm$ 0,59	0,48 $\pm$ 0,03
LB 3 C	1,11 $\pm$ 0,68	0,35 $\pm$ 0,06	HB 3 C	0,93 $\pm$ 0,57	0,38 $\pm$ 0,05

**Tabell B4:** Oversikt over konsentrasjonen av DIN fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
2	3,13	3,54	1,75	2,87	1,70	2,21	1,09	0,22	0,68	0,27
4	3,13	4,02	0,41	3,02	0,79	1,63	0,29	0,74	0,29	0,29
5	2,96	#I/T	0,63	2,13	0,85	2,85	0,07	0,18	0,07	0,07
6	1,18	2,07	0,29	0,96	0,74	1,85	0,07	0,46	0,18	0,18
8	1,03	0,86	0,58	1,60	0,52	0,81	0,58	0,47	0,47	0,47
11	0,43	0,72	0,29	0,19	0,05	0,14	0,29	0,19	0,10	0,14
Gjennomsnitt	2,01	2,24	0,88	1,85	0,98	1,67	0,66	0,64	0,57	0,52

**Tabell B5:** Oversikt over konsentrasjonen av DIP fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
2	0,44	0,51	0,36	0,41	0,39	0,44	0,34	0,30	0,42	0,29
4	0,31	0,51	0,25	0,37	0,39	0,35	0,15	0,35	0,17	0,28
5	0,29	#I/T	0,23	0,28	0,21	0,35	0,12	0,19	0,11	0,21
6	0,28	0,30	0,24	0,26	0,25	0,24	0,21	0,21	0,10	0,12
8	0,35	0,42	0,32	0,43	0,25	0,42	0,36	0,37	0,36	0,49
11	0,25	0,35	0,30	0,27	0,22	0,26	0,30	0,26	0,33	0,35
Gjennomsnitt	0,34	0,42	0,30	0,35	0,31	0,36	0,27	0,30	0,27	0,31

**Tabell B6:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm SE$ ) for dag 2 til dag 6 for løst uorganisk nitrogen (DIN) og løst uorganisk fosfor (DIP).

Mikrokosme	Nitrat ( $\mu M$ )	Fosfat ( $\mu M$ )	Mikrokosme	Nitrat ( $\mu M$ )	Fosfat ( $\mu M$ )
LB 0 C	2,60 $\pm$ 0,48	0,33 $\pm$ 0,04	HB 0 C	2,41 $\pm$ 0,90	0,33 $\pm$ 0,12
LB 0,5 C	0,77 $\pm$ 0,33	0,27 $\pm$ 0,03	HB 0,5 C	2,25 $\pm$ 0,47	0,33 $\pm$ 0,04
LB 1 C	1,02 $\pm$ 0,23	0,31 $\pm$ 0,05	HB 1 C	2,14 $\pm$ 0,27	0,35 $\pm$ 0,04
LB 2 C	0,38 $\pm$ 0,24	0,20 $\pm$ 0,05	HB 2 C	0,40 $\pm$ 0,13	0,26 $\pm$ 0,04
LB 3 C	0,31 $\pm$ 0,13	0,20 $\pm$ 0,07	HB 3 C	0,20 $\pm$ 0,05	0,23 $\pm$ 0,04

**Vedlegg C**

Vedlegget inneholder rådata for konsentrasjonen av total klorofyll  $a$ , klorofyll  $a < 2 \mu\text{m}$  (målt som  $\mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$ ) og prosentandelen av klorofyll  $a < 2 \mu\text{m}$  fra total klorofyll  $a$  for lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose. Tabell C1-C4 er for mesokosmeforsøket, og tabell C5-C8 er for mikrokosmeforsøket.

**Tabell C1:** Oversikt over konsentrasjonen av total klorofyll  $a$  fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
1	0,34	0,39	0,38	0,36	0,38	0,42	0,33	0,36	0,39	0,36
2	0,62	0,96	0,72	0,63	0,59	0,78	0,66	0,63	0,75	0,59
3	1,51	2,63	1,90	1,59	1,37	1,75	1,41	1,30	1,67	1,25
4	3,26	13,3	4,73	3,61	3,27	4,18	3,54	2,78	2,83	2,83
5	12,6	17,6	13,9	10,4	9,57	8,45	3,53	6,16	2,86	5,40
6	11,3	10,4	4,74	7,48	6,05	5,02	3,87	2,32	2,86	2,42
7	11,5	#/T	#/T	3,18	#/T	3,94	4,61	4,28	#/T	#/T
8	26,6	#/T	#/T	4,20	#/T	#/T	9,17	5,85	#/T	#/T
9	26,5	#/T	#/T	2,29	#/T	#/T	5,08	3,58	#/T	#/T
10	36,9	#/T	#/T	7,54	#/T	#/T	13,0	20,8	#/T	#/T
Gjennomsnitt	11,9	6,51	3,81	3,78	3,07	3,11	4,14	4,40	1,67	1,88

**Tabell C2:** Oversikt over konsentrasjonen av klorofyll  $a < 2 \mu\text{m}$  fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
1	0,29	0,33	0,33	0,31	0,31	0,37	0,34	0,33	0,34	0,34
2	0,46	0,92	0,33	0,60	0,50	0,68	0,57	0,56	0,60	0,54
3	1,36	3,06	1,90	1,48	1,32	1,66	1,20	1,11	1,17	1,22
4	2,67	14,1	4,21	3,28	2,83	4,55	3,16	3,12	1,99	2,58
5	4,83	13,5	5,76	6,87	3,75	11,2	3,09	7,40	2,01	3,74
6	4,39	8,90	4,01	5,39	2,31	3,40	2,20	0,94	1,13	1,45
7	1,37	#/T	#/T	0,94	#/T	0,76	0,67	0,61	#/T	#/T
8	1,42	#/T	#/T	0,83	#/T	#/T	0,92	0,64	#/T	#/T
9	0,96	#/T	#/T	0,66	#/T	#/T	0,60	0,58	#/T	#/T
10	0,78	#/T	#/T	0,56	#/T	#/T	0,55	0,53	#/T	#/T
Gjennomsnitt	1,70	5,86	2,45	1,92	1,60	2,85	1,23	1,46	1,07	1,44

**Tabell C3:** Oversikt over prosentandelen av klorofyll a < 2 µm fra total chl a fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8	68,8
1	85,5	83,8	88,5	84,1	80,4	87,8	101	91,7	86,7	95,8
2	74,2	95,0	99,8	94,9	85,5	87,0	86,3	88,1	80,1	92,3
3	89,9	116	100	93,0	96,5	94,8	84,5	85,8	70,2	97,7
4	82,0	106	89,2	91,1	86,7	109	89,1	112	70,5	91,4
5	38,4	77,1	41,4	66,2	39,2	133	87,6	120	70,3	69,2
6	38,7	85,5	84,6	72,0	38,7	67,8	56,9	40,4	39,4	60,0
7	12,0	#I/T	#I/T	29,6	#I/T	19,3	14,5	14,2	#I/T	#I/T
8	5,35	#I/T	#I/T	19,9	#I/T	#I/T	9,98	11,0	#I/T	#I/T
9	3,62	#I/T	#I/T	28,8	#I/T	#I/T	11,8	16,2	#I/T	#I/T
10	2,13	#I/T	#I/T	7,36	#I/T	#I/T	4,25	2,55	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	45,5	90,3	81,8	59,6	70,7	83,4	55,8	59,2	69,4	82,2

**Tabell C4:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for total klorofyll a, klorofyll a < 2 µm og prosentandel av klorofyll a < 2 µm av total klorofyll a.

Mesokosme	Chl a <2µm (µg l <sup>-1</sup> )		(% av total)	Total chl a (µg l <sup>-1</sup> )
LB 0 C	2,74 ± 0,84	64,6 ± 10,9		5,86 ± 2,53
LB 0,5 C	3,32 ± 0,89	83,0 ± 10,8		5,20 ± 2,32
LB 1 C	2,14 ± 0,57	69,2 ± 12,6		3,67 ± 1,58
LB 2 C	2,04 ± 0,51	80,9 ± 6,04		2,37 ± 0,79
LB 3 C	1,38 ± 0,27	66,1 ± 6,95		2,20 ± 0,43
HB 0 C	8,09 ± 2,67	95,9 ± 6,97		8,97 ± 3,15
HB 0,5 C	3,52 ± 1,17	83,4 ± 5,96		4,74 ± 1,84
HB 1 C	4,30 ± 1,85	98,2 ± 10,8		4,04 ± 1,35
HB 2 C	2,63 ± 1,27	89,3 ± 13,9		2,64 ± 0,96
HB 3 C	1,91 ± 0,56	82,1 ± 7,38		2,50 ± 0,83

**Tabell C5:** Oversikt over konsentrasjonen av total klorofyll a fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08
2	31,7	22,8	24,0	18,9	20,6	17,7	20,5	15,9	15,8	14,9
4	50,1	37,1	31,4	47,6	25,5	58,7	22,1	25,3	26,8	25,2
5	33,5	#I/T	#I/T	40,7	26,5	33,1	16,8	36,0	17,9	19,5
6	39,3	57,8	39,6	55,6	28,6	35,5	19,3	34,0	19,7	26,4
8	53,6	64,1	48,2	50,9	39,0	75,2	52,7	74,3	18,7	37,7
11	59,5	88,0	63,6	85,5	52,0	83,8	34,3	46,6	19,0	40,9
Gjennomsnitt	39,5	46,5	36,0	44,0	28,8	44,7	25,0	34,5	18,1	24,8



Vedlegg

**Tabell C6:** Oversikt over konsentrasjonen av klorofyll a < 2 µm fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96	0,96
2	1,04	1,23	1,40	1,81	1,38	1,82	3,59	1,70	1,44	1,60
4	0,83	0,88	0,75	1,16	0,91	1,14	1,36	1,56	1,52	2,02
5	1,23	#I/T	#I/T	1,55	1,22	1,39	1,23	1,66	1,25	1,39
6	1,22	1,86	1,41	1,48	0,93	1,50	0,84	1,75	1,14	1,36
8	1,84	1,00	1,72	1,94	1,44	2,00	1,13	1,80	1,15	1,37
11	1,85	2,00	1,42	2,09	1,42	7,55	2,48	6,20	1,75	1,54
Gjennomsnitt	1,28	1,32	1,28	1,57	1,18	2,34	1,65	2,23	1,31	1,46

**Tabell C7:** Oversikt over prosentandelen av klorofyll a < 2 µm fra total klorofyll a fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
2	3,28	5,41	5,82	9,57	6,72	10,3	17,5	10,7	9,09	10,7
4	1,66	2,38	2,39	2,44	3,56	1,94	6,16	6,16	5,67	7,99
5	3,67	#I/T	#I/T	3,82	4,62	4,19	7,31	4,59	7,01	7,16
6	3,10	3,22	3,55	2,67	3,25	4,24	4,34	5,13	5,77	5,16
8	3,42	1,57	3,57	3,81	3,69	2,65	2,14	2,43	6,13	3,64
11	3,12	2,27	2,24	2,45	2,74	9,01	7,23	13,3	9,17	3,77
Gjennomsnitt	4,12	4,24	4,69	5,05	5,02	6,13	7,90	7,56	7,64	7,01

**Tabell C8:** Gjennomsnittskonsentrasjoner ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for total klorofyll a, klorofyll a < 2 µm og prosentandel av klorofyll a < 2 µm av total klorofyll a.

Mikrokosme	Chl a <2µm		Total chl a (µg l <sup>-1</sup> )
	(µg l <sup>-1</sup> )	(% av total)	
LB 0 C	1,08 ± 0,09	2,93 ± 0,44	38,6 ± 4,14
LB 0,5 C	1,19 ± 0,22	2,94 ± 1,01	31,6 ± 4,50
LB 1 C	1,11 ± 0,11	4,54 ± 0,78	25,3 ± 1,69
LB 2 C	1,76 ± 0,62	8,83 ± 2,96	19,7 ± 1,11
LB 3 C	1,34 ± 0,09	6,89 ± 0,79	20,1 ± 2,38
HB 0 C	1,32 ± 0,29	2,75 ± 0,90	39,2 ± 10,2
HB 0,5 C	1,50 ± 0,13	4,62 ± 1,68	40,7 ± 7,89
HB 1 C	1,46 ± 0,41	5,17 ± 1,79	36,2 ± 8,46
HB 2 C	1,67 ± 0,04	6,65 ± 1,39	27,8 ± 4,61
HB 3 C	1,59 ± 0,15	7,76 ± 1,15	21,5 ± 2,67

**Vedlegg D**

Vedlegget inneholder rådata for celletettheten av pikocyanobakterier (PCY), heterotrofe bakterier (BAK), heterotrofe nanoflagellater (HNF), ciliater (CIL) og kopepoder (KOP). PCY og HNF er målt som  $*10^6$  celler  $l^{-1}$ , BAK er målt som  $*10^9$  celler  $l^{-1}$ , CIL er målt som  $*10^3$  celler  $l^{-1}$  og KOP er målt som individer  $l^{-1}$ . I tillegg er det en tabell som viser gjennomsnittsstørrelse for CIL (i %) og for KOP er det oversikt over biomassen (målt som  $\mu g C l^{-1}$ ). Målingene er gjort for lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose. Tabell D1-D7 er for mesokosmeforsøket, tabell D8-D14 er for mikrokosmeforsøket.

**Tabell D1:** Oversikt over celletettheten for PCY fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	5,76	5,03	5,22	6,10	5,39	5,32	6,15	5,33	6,39	5,96
1	7,46	5,68	5,31	6,02	5,50	5,77	6,12	6,63	7,54	7,65
2	12,5	11,6	12,4	21,3	13,9	11,5	13,2	12,7	12,2	12,9
3	19,6	16,0	16,8	20,5	20,9	17,6	20,8	20,5	19,4	20,3
4	36,3	28,0	26,6	40,8	41,8	30,6	36,7	37,0	29,7	34,5
5	63,1	33,7	35,6	65,6	62,3	38,5	57,0	58,5	18,7	57,9
6	103	20,2	22,5	67,5	73,8	20,4	51,2	37,5	20,1	45,1
7	97,9	#I/T	#I/T	16,4	#I/T	5,39	30,9	4,98	#I/T	#I/T
8	36,1	#I/T	#I/T	3,15	#I/T	#I/T	9,89	2,21	#I/T	#I/T
9	17,3	#I/T	#I/T	1,67	#I/T	#I/T	4,00	1,18	#I/T	#I/T
10	9,50	#I/T	#I/T	1,52	#I/T	#I/T	2,55	1,47	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	37,1	17,2	17,8	22,8	31,9	16,9	21,7	17,1	16,3	26,3

**Tabell D2:** Oversikt over celletettheten for BAK fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	#I/T	0,37	0,75	0,61	0,35	0,63	0,59	1,16	0,68	0,53
1	0,96	1,58	1,59	1,90	1,79	1,57	1,60	1,61	2,08	1,44
2	2,03	2,98	2,42	4,13	2,61	3,51	3,03	3,04	2,78	2,37
3	1,49	1,97	1,88	3,15	#I/T	3,97	#I/T	#I/T	1,69	3,25
4	1,36	1,89	1,82	4,74	3,51	3,86	5,11	6,32	6,30	8,48
5	1,55	2,07	1,93	3,41	2,44	2,30	4,98	5,13	4,15	4,32
6	1,49	3,47	2,37	2,92	2,33	3,37	4,28	3,69	2,96	3,36
7	1,71	#I/T	#I/T	2,38	#I/T	3,33	2,33	3,16	#I/T	#I/T
8	2,72	#I/T	#I/T	2,90	#I/T	#I/T	2,46	2,66	#I/T	#I/T
9	3,75	#I/T	#I/T	5,91	#I/T	#I/T	5,27	5,34	#I/T	#I/T
10	6,39	#I/T	#I/T	7,70	#I/T	#I/T	4,80	6,41	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	2,35	2,05	1,82	3,61	2,17	2,82	3,44	3,85	2,95	3,39

**Tabell D3:** Oversikt over celletettheten for HNF fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	0,05	0,07	0,05	0,04	0,03	0,06	0,07	0,02	0,03	0,03
1	0,06	0,09	0,09	0,09	0,06	0,15	0,07	0,10	0,09	#I/T
2	0,11	0,08	0,05	0,13	0,07	0,21	0,12	0,17	0,15	0,24
3	0,07	0,09	0,09	0,14	0,45	0,30	2,15	0,91	3,35	3,19
4	0,08	0,18	0,10	0,39	0,27	0,53	2,08	0,74	2,88	#I/T
5	0,11	0,34	0,39	0,44	0,36	1,26	2,38	1,72	2,27	4,13
6	0,57	2,60	0,55	1,82	0,75	3,96	1,89	2,58	4,11	5,28
7	0,39	#I/T	#I/T	0,71	#I/T	1,35	1,07	2,11	#I/T	#I/T
8	0,37	#I/T	#I/T	0,87	#I/T	#I/T	1,32	1,32	#I/T	#I/T
9	0,56	#I/T	#I/T	1,09	#I/T	#I/T	1,08	1,43	#I/T	#I/T
10	1,92	#I/T	#I/T	0,96	#I/T	#I/T	2,02	0,95	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,39	0,49	0,19	0,61	0,28	0,98	1,29	1,10	1,84	2,57

**Tabell D4:** Gjennomsnittlig celletetthet ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for PCY, BAK og HNF.

Mesokosme	PCY ( $10^6$ l <sup>-1</sup> )	BAK ( $10^9$ l <sup>-1</sup> )	HNF ( $10^6$ l <sup>-1</sup> )
LB 0C	46,8 $\pm$ 16,4	1,58 $\pm$ 0,12	0,19 $\pm$ 0,10
LB 0,5 C	22,8 $\pm$ 4,02	2,08 $\pm$ 0,13	0,24 $\pm$ 0,10
LB 1C	42,5 $\pm$ 11,5	2,72 $\pm$ 0,21	0,40 $\pm$ 0,11
LB 2C	35,8 $\pm$ 8,43	4,18 $\pm$ 0,41	1,72 $\pm$ 0,41
LB 3C	20,0 $\pm$ 2,80	3,58 $\pm$ 0,79	2,55 $\pm$ 0,67
HB 0C	21,9 $\pm$ 4,00	2,48 $\pm$ 0,32	0,66 $\pm$ 0,49
HB 0,5 C	43,1 $\pm$ 10,2	3,67 $\pm$ 0,34	0,59 $\pm$ 0,32
HB 1 C	23,7 $\pm$ 4,82	3,40 $\pm$ 0,30	1,25 $\pm$ 0,70
HB 2 C	33,2 $\pm$ 7,92	4,58 $\pm$ 0,57	1,23 $\pm$ 0,42
HB 3 C	34,1 $\pm$ 8,15	4,36 $\pm$ 1,08	3,27 $\pm$ 0,84

**Tabell D5:** Oversikt over celletettheten for CIL fra dag 0 til 6, samt gjennomsnitt for dagene.

Mesokosme	LB			HB		
Dag	0C	1C	3C	0C	1C	3C
0	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
1	3,34	2,99	1,90	1,91	3,17	2,98
4	17,8	14,8	21,3	12,1	11,8	28,7
6	94,1	126,7	85,7	27,2	130,6	233,5
Gjennomsnitt	38,4	48,2	36,3	14,0	48,5	88,4

## Vedlegg

**Tabell D6:** Oversikt over gjennomsnittlig cellestørrelse for CIL fra dag 0 til 6, samt gjennomsnitt, for mesokosmeforsøket. ESD står for ekvivalent sfærisk diameter.

Mesokosme	20-40 $\mu\text{M}$ ESD (%)	40-60 $\mu\text{M}$ ESD (%)	>60 $\mu\text{M}$ ESD (%)
LB 0C	83,7	15,3	0,98
LB 1C	75,6	20,0	4,41
LB 3C	81,7	17,7	0,68
Gjennomsnitt	80,3	17,7	2,02
HB 0C	66,3	28,5	5,20
HB 1 C	67,0	28,7	4,31
HB 3 C	80,3	17,3	2,37
Gjennomsnitt	71,2	24,8	3,96

**Tabell D7:** Oversikt over celletettheten og biomassen for KOP fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for dagene.

Mesokosme	LB 0C		LB 2C		HB 0C		HB 2C	
	Ind.	$\mu\text{g C}$	Ind.	$\mu\text{g C}$	Ind.	$\mu\text{g C}$	Ind.	$\mu\text{g C}$
0	149	57,4	99,5	50,7	132	45,4	79,2	23,2
2	133	37,9	168	56,7	155	82,9	175	70,7
4	174	55,8	181	81,4	152	58,8	105	29,4
8	125	48,3	167	55,2	124	59,1	68,8	49,0
11	127	51,9	316	123	302	151	167	229
Gjennomsnitt	142	50,3	186	73,3	173	79,4	119	80,2

**Tabell D8:** Oversikt over celletettheten for PCY fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8	14,8
2	11,3	15,5	15,7	18,1	14,7	21,3	16,7	19,2	14,7	17,5
4	10,4	10,6	10,6	16,3	11,3	11,4	18,1	16,0	16,2	26,6
5	8,26	7,22	6,85	6,76	7,04	6,73	14,3	7,85	14,4	13,5
6	6,31	6,01	3,39	3,41	6,59	4,21	5,49	4,82	7,21	4,17
8	8,72	9,15	2,58	5,05	4,21	4,47	3,50	7,78	4,51	5,09
11	5,11	27,9	15,7	11,9	13,9	14,0	3,34	13,0	6,17	7,60
Gjennomsnitt	9,27	13,0	9,94	10,9	10,3	11,0	10,9	11,9	11,1	12,7

**Tabell D9:** Oversikt over celletettheten for BAK fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23	2,23
2	2,14	4,13	2,84	3,89	3,47	5,19	3,05	5,62	3,66	5,09
4	1,04	1,29	1,96	2,14	1,83	1,67	2,99	2,36	2,40	4,45
5	1,58	1,31	1,96	1,43	1,57	1,76	1,63	2,03	2,43	1,44
6	0,96	1,15	1,76	1,11	1,48	1,44	1,94	1,80	1,42	1,94
8	2,79	2,78	2,96	2,86	3,30	3,54	3,11	3,45	2,39	2,65
11	2,25	3,58	2,21	3,10	3,15	3,44	2,39	4,20	4,47	4,71
Gjennomsnitt	1,86	2,35	2,28	2,39	2,43	2,75	2,48	3,10	2,72	3,22

**Tabell D10:** Oversikt over celletettheten for HNF fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
2	1,81	3,64	3,25	6,53	2,22	6,88	3,12	9,00	2,27	12,2
4	4,97	9,12	8,11	15,8	7,04	15,3	12,3	18,7	7,87	22,9
5	4,31	5,70	9,17	12,7	10,5	9,75	21,5	12,7	18,2	28,4
6	4,25	6,35	5,36	9,70	10,9	5,84	9,42	11,6	24,4	10,1
8	8,37	13,2	12,8	4,59	13,0	10,1	12,9	14,5	24,0	9,09
11	5,63	5,81	8,63	13,1	9,71	15,6	15,0	13,9	20,3	13,6
Gjennomsnitt	4,25	6,32	6,82	8,99	7,67	9,12	10,7	11,5	13,9	13,8

**Tabell D11:** Gjennomsnittlig celletetthet ( $\pm SE$ ) for dag 2 til dag 6 for PCY, BAK og HNF.

Mikrokosme	PCY ( $10^6 I^{-1}$ )	BAK ( $10^9 I^{-1}$ )	HNF ( $10^6 I^{-1}$ )
LB 0C	9,06 $\pm$ 1,11	1,43 $\pm$ 0,28	3,84 $\pm$ 0,70
LB 0,5 C	9,12 $\pm$ 2,63	2,13 $\pm$ 0,24	6,47 $\pm$ 1,34
LB 1C	9,93 $\pm$ 1,92	2,09 $\pm$ 0,47	7,65 $\pm$ 2,00
LB 2C	13,6 $\pm$ 2,83	2,40 $\pm$ 0,36	11,6 $\pm$ 3,82
LB 3C	13,1 $\pm$ 2,01	2,48 $\pm$ 0,46	13,2 $\pm$ 5,00
HB 0C	9,81 $\pm$ 2,11	2,00 $\pm$ 0,72	6,20 $\pm$ 1,13
HB 0,5 C	11,1 $\pm$ 3,58	2,14 $\pm$ 0,62	11,2 $\pm$ 2,00
HB 1 C	10,9 $\pm$ 3,76	2,52 $\pm$ 0,90	9,44 $\pm$ 2,12
HB 2 C	12,0 $\pm$ 3,37	2,95 $\pm$ 0,90	13,0 $\pm$ 2,05
HB 3 C	15,4 $\pm$ 4,65	3,23 $\pm$ 0,90	18,4 $\pm$ 4,35

**Tabell D12:** Oversikt over celletettheten for CIL fra dag 0 til 8, samt gjennomsnitt for dagene.

<b>Mikrokosme</b>	<b>LB 0C</b>	<b>LB 1C</b>	<b>LB 3C</b>	<b>HB 0C</b>	<b>HB 1C</b>	<b>HB 3C</b>
<b>Dag</b>						
0	2,63	2,63	2,63	2,63	2,63	2,63
2	0,47	1,66	3,57	2,61	4,53	4,27
4	0,47	1,66	1,67	8,08	6,90	4,50
8	#I/T	1,66	9,70	#I/T	5,69	6,39
Gjennomsnitt	1,19	1,90	4,39	4,44	4,94	4,45

**Tabell D13:** Oversikt over gjennomsnittlig cellestørrelse for CIL fra dag 0 til 8, samt gjennomsnitt. ESD står for ekvivalent sfærisk diameter.

<b>Mikrokosme</b>	<b>20-40 µM ESD (%)</b>	<b>40-60 µM ESD (%)</b>	<b>&gt;60 µM ESD (%)</b>
LB 0C	11,1	55,57	#I/T
LB 1C	61,93	33,33	4,77
LB 3C	24,4	8,13	0,8
Gjennomsnitt	32,5	32,3	1,86
HB 0C	49,53	17,13	#I/T
HB 1 C	67,07	24,5	8,43
HB 3 C	51,00	41,6	7,4
Gjennomsnitt	55,9	27,7	5,28

**Tabell D14:** Oversikt over celletettheten og biomassen for KOP fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for dagene.

<b>Mikrokosme</b>	<b>LB 0C</b>		<b>LB 1C</b>		<b>LB 3C</b>	
	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>
0	71,5	12,2				
2	170	24,0	152	14,0	77,4	8,63
4	135	15,9	145	19,5	91,5	12,6
8	107	27,0	147	41,6	114	22,8
11	152	46,0	128	52,1	92,0	22,0
Gjennomsnitt	127	25,0	143	31,8	93,9	16,5
<b>Mikrokosme</b>	<b>HB 0C</b>		<b>HB 1C</b>		<b>HB 3C</b>	
	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>	<b>Ind.</b>	<b>µg C</b>
0						
2	162	78,0	135	97,8	212	93,5
4	221	131	179	129	168	71,6
8	190	211	192	128	194	111
11	193	203	177	152	257	140
Gjennomsnitt	191	156	171	126	208	104

**Vedlegg E**

Vedlegget inneholder rådata for spesifikk veksthastighet ( $\mu$ ), tapshastighet ( $t$ ) og spesifikk endringshastighet ( $r$ ) for PCY og BAK målt som  $d^{-1}$  for lavt beitetrykk (LB) og høyt beitetrykk (HB). Karbongradient fra 0C til 3C, der 0C er ingen og 3C er høyest tilsetning av glukose. Tabell E1-E7 er for mesokosmeforsøket, og E8 -E14 er for mikrokosmeforsøket.

**Tabell E1:** Oversikt over spesifikk veksthastighet for PCY fra dag 0 til 6, samt gjennomsnitt for dagene.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	1,35	#I/T	#I/T	#I/T	1,59	1,21	#I/T	1,08	#I/T	#I/T
2	0,42	0,65	0,48	0,59	0,59	0,69	0,93	0,77	0,75	0,64
4	1,25	1,11	1,08	1,04	1,16	1,17	0,86	1,06	0,73	1,12
6	1,18	0,72	0,58	1,13	1,21	1,37	0,62	1,00	0,78	0,89
Gjennomsnitt	1,05	0,83	0,71	0,92	1,14	1,11	0,80	0,98	0,75	0,88

**Tabell E2:** Oversikt over tapshastighet for PCY fra dag 0 til 6, samt gjennomsnitt for dagene.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	1,09	#I/T	#I/T	#I/T	1,57	1,13	#I/T	0,86	#I/T	#I/T
2	-0,03	0,32	0,18	0,63	0,18	0,27	0,48	0,29	0,28	0,18
4	0,70	0,93	0,79	0,56	0,76	0,94	0,42	0,60	1,19	0,60
6	1,23	#I/T	#I/T	2,55	#I/T	2,70	1,13	3,02	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,75	0,63	0,49	1,25	0,84	1,26	0,68	1,19	0,74	0,39

**Tabell E3:** Oversikt over spesifikk endringshastighet for PCY fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	0,26	0,12	0,01	-0,02	0,02	0,08	-0,01	0,22	0,17	0,25
1	0,51	0,71	0,85	1,27	0,93	0,69	0,77	0,65	0,48	0,52
2	0,45	0,33	0,30	-0,04	0,41	0,42	0,45	0,48	0,47	0,46
3	0,62	0,56	0,47	0,69	0,69	0,56	0,57	0,59	0,42	0,53
4	0,55	0,18	0,29	0,48	0,40	0,23	0,44	0,46	-0,46	0,52
5	0,49	-0,51	-0,46	0,03	0,17	-0,64	-0,11	-0,44	0,07	-0,25
6	-0,05	#I/T	#I/T	-1,42	#I/T	-1,33	-0,51	-2,02	#I/T	#I/T
7	-1,00	#I/T	#I/T	-1,65	#I/T	#I/T	-1,19	-0,81	#I/T	#I/T
8	-0,74	#I/T	#I/T	-0,64	#I/T	#I/T	-0,86	-0,63	#I/T	#I/T
9	-0,60	#I/T	#I/T	-0,10	#I/T	#I/T	-0,45	0,22	#I/T	#I/T
10	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,05	0,23	0,24	-0,14	0,44	0,001	-0,09	-0,13	0,19	0,34

## Vedlegg

**Tabell E4:** Oversikt over spesifikk veksthastighet for BAK fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	#I/T	1,69	0,54	0,82	1,16	0,69	0,74	0,41	0,70	0,76
1	0,25	0,40	0,33	0,41	0,22	0,56	0,25	0,43	0,21	0,46
2	0,17	0,23	0,41	0,47	0,32	0,48	0,27	0,61	0,36	0,72
3	0,19	0,36	0,70	0,71	#I/T	0,58	#I/T	#I/T	3,06	1,85
4	0,16	0,25	0,51	0,64	0,49	0,41	0,51	0,48	0,59	0,39
5	0,16	0,26	0,29	0,34	0,30	0,41	0,47	0,38	0,70	0,58
6	0,42	0,19	0,26	0,44	0,56	0,31	0,43	0,26	0,42	0,53
7	0,20	#I/T	#I/T	0,11	#I/T	0,12	0,16	0,11	#I/T	#I/T
8	0,22	#I/T	#I/T	0,15	#I/T	#I/T	0,41	0,22	#I/T	#I/T
9	0,31	#I/T	#I/T	0,12	#I/T	#I/T	0,35	0,47	#I/T	#I/T
10	0,15	#I/T	#I/T	0,11	#I/T	#I/T	0,19	0,10	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,22	0,48	0,43	0,39	0,51	0,45	0,38	0,35	0,86	0,76

**Tabell E5:** Oversikt over tapshastighet for BAK fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
Dag	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	#I/T	0,23	-0,21	-0,31	-0,46	-0,22	-0,25	0,08	-0,42	-0,24
1	-0,50	-0,23	-0,09	-0,37	-0,16	-0,25	-0,39	-0,20	-0,08	-0,04
2	0,48	0,64	0,66	0,74	0,32	0,36	0,27	0,61	0,86	0,40
3	0,29	0,41	0,73	0,30	#I/T	0,61	#I/T	#I/T	1,74	0,89
4	0,03	0,15	0,46	0,97	0,85	0,93	0,57	0,69	1,01	1,06
5	0,20	-0,26	0,08	0,50	0,35	0,03	0,62	0,71	1,04	0,83
6	0,28	0,19	0,26	0,65	0,56	0,32	1,04	0,42	0,42	0,53
7	-0,27	#I/T	#I/T	-0,09	#I/T	0,12	0,10	0,28	#I/T	#I/T
8	-0,10	#I/T	#I/T	-0,56	#I/T	#I/T	-0,35	-0,47	#I/T	#I/T
9	-0,22	#I/T	#I/T	-0,14	#I/T	#I/T	0,44	0,29	#I/T	#I/T
10	0,15	#I/T	#I/T	0,11	#I/T	#I/T	0,19	0,10	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,03	0,16	0,27	0,16	0,24	0,24	0,22	0,25	0,65	0,49



Vedlegg

**Tabell E6:** Oversikt over spesifikk endringshastighet for BAK fra dag 0 til 10, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mesokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	#I/T	1,46	0,75	1,13	1,62	0,91	0,99	0,33	1,12	1,00
1	0,75	0,63	0,42	0,78	0,38	0,81	0,64	0,63	0,29	0,50
2	-0,31	-0,41	-0,25	-0,27	#I/T	0,12	#I/T	#I/T	-0,50	0,32
3	-0,10	-0,05	-0,03	0,41	#I/T	-0,03	#I/T	#I/T	1,32	0,96
4	0,13	0,10	0,05	-0,33	-0,36	-0,52	-0,06	-0,21	-0,42	-0,67
5	-0,04	0,52	0,21	-0,16	-0,05	0,38	-0,15	-0,33	-0,34	-0,25
6	0,14	#I/T	#I/T	-0,21	#I/T	-0,01	-0,61	-0,16	#I/T	#I/T
7	0,47	#I/T	#I/T	0,20	#I/T	#I/T	0,06	-0,17	#I/T	#I/T
8	0,32	#I/T	#I/T	0,71	#I/T	#I/T	0,76	0,69	#I/T	#I/T
9	0,53	#I/T	#I/T	0,26	#I/T	#I/T	-0,09	0,18	#I/T	#I/T
10	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,21	0,38	0,19	0,25	0,40	0,24	0,19	0,12	0,25	0,31

**Tabell E7:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm$ SE) for dag 2 til dag 6 for PCY og BAK for  $\mu$ ,  $t$  og  $r$ .

Mesokosme	$\mu_{\text{FDC}}$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$t$ (p+v) ( $\text{d}^{-1}$ )	$r$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$\mu_{\text{leucin}}$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$t$ (p+v) ( $\text{d}^{-1}$ )	$r$ ( $\text{d}^{-1}$ )
LB 0C	0,95 $\pm$ 0,3	0,63 $\pm$ 0,4	0,41 $\pm$ 0,1	0,22 $\pm$ 0,1	0,26 $\pm$ 0,1	-0,03 $\pm$ 0,1
LB 0,5C	0,71 $\pm$ 0,2	0,49 $\pm$ 0,3	0,15 $\pm$ 0,2	0,43 $\pm$ 0,1	0,44 $\pm$ 0,1	-0,01 $\pm$ 0,1
LB 1C	0,99 $\pm$ 0,2	0,47 $\pm$ 0,3	0,42 $\pm$ 0,1	0,42 $\pm$ 0,1	0,52 $\pm$ 0,1	-0,21 $\pm$ 0,2
LB 2C	0,80 $\pm$ 0,1	0,67 $\pm$ 0,2	0,17 $\pm$ 0,2	0,42 $\pm$ 0,1	0,63 $\pm$ 0,2	-0,27 $\pm$ 0,2
LB 3C	0,75 $\pm$ 0,01	0,74 $\pm$ 0,5	0,12 $\pm$ 0,2	1,03 $\pm$ 0,5	1,01 $\pm$ 0,2	0,02 $\pm$ 0,4
HB 0C	0,83 $\pm$ 0,2	0,63 $\pm$ 0,3	0,14 $\pm$ 0,2	0,26 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,2	0,04 $\pm$ 0,2
HB 0,5C	0,92 $\pm$ 0,2	1,25 $\pm$ 0,7	-0,05 $\pm$ 0,4	0,52 $\pm$ 0,1	0,63 $\pm$ 0,1	-0,11 $\pm$ 0,1
HB 1C	1,08 $\pm$ 0,2	1,30 $\pm$ 0,7	-0,15 $\pm$ 0,4	0,44 $\pm$ 0,1	0,45 $\pm$ 0,2	-0,01 $\pm$ 0,2
HB 2C	0,95 $\pm$ 0,1	1,31 $\pm$ 0,9	-0,19 $\pm$ 0,5	0,43 $\pm$ 0,1	0,61 $\pm$ 0,1	-0,23 $\pm$ 0,1
HB 3C	0,88 $\pm$ 0,1	0,39 $\pm$ 0,2	0,31 $\pm$ 0,2	0,82 $\pm$ 0,3	0,74 $\pm$ 0,1	0,09 $\pm$ 0,4

**Tabell E8:** Oversikt over spesifikk veksthastighet for PCY fra dag 0 til 8, samt gjennomsnitt for dagene.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
0	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
2	0,99	0,95	1,08	1,06	0,86	1,10	1,09	1,02	0,93	0,97
4	1,10	1,16	1,09	1,06	1,11	1,06	0,94	1,09	1,17	1,08
6	1,63	1,71	1,59	1,68	1,66	1,66	1,79	1,25	1,74	1,81
8	1,35	1,24	1,26	1,38	1,30	1,27	1,55	1,33	1,75	1,50
Gjennomsnitt	1,27	1,27	1,26	1,30	1,23	1,27	1,34	1,17	1,40	1,34

## Vedlegg

**Tabell E9:** Oversikt over tapshastighet for PCY fra dag 0 til 8, samt gjennomsnitt for dagene.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
2	1,07	1,33	1,47	1,17	1,12	1,73	1,01	1,21	0,83	0,55
4	1,33	1,54	1,53	1,94	1,59	1,58	1,18	1,80	1,29	1,76
6	1,31	1,29	1,86	1,29	2,11	1,60	2,24	0,77	2,21	1,61
8	1,88	0,13	-0,54	0,52	0,11	0,13	1,60	0,82	1,44	1,10
Gjennomsnitt	1,40	1,07	1,08	1,23	1,23	1,26	1,51	1,15	1,44	1,26

**Tabell E10:** Oversikt over spesifikk endringshastighet for PCY fra dag 0 til 8, samt gjennomsnitt for dagene.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27	-0,27
2	-0,08	-0,38	-0,39	-0,11	-0,26	-0,63	0,08	-0,19	0,10	0,42
4	-0,23	-0,38	-0,44	-0,88	-0,48	-0,52	-0,24	-0,71	-0,12	-0,68
5	-0,27	-0,18	-0,70	-0,68	-0,06	-0,47	-0,96	-0,49	-0,69	-1,17
6	0,32	0,42	-0,27	0,39	-0,45	0,06	-0,45	0,48	-0,47	0,20
8	-0,53	1,11	1,80	0,86	1,19	1,14	-0,05	0,51	0,31	0,40
11	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	-0,18	0,05	-0,05	-0,12	-0,06	-0,12	-0,32	-0,11	-0,19	-0,18

**Tabell E11:** Oversikt over spesifikk veksthastighet for BAK fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
2	0,19	0,41	0,43	0,35	0,37	0,18	0,55	0,45	0,40	0,62
4	0,35	0,71	0,27	1,77	0,47	0,66	0,43	1,53	0,39	0,74
5	0,22	1,38	0,00	1,30	0,51	1,03	0,50	1,52	0,39	1,11
6	0,23	1,19	0,42	1,37	0,73	1,29	0,57	0,98	0,75	0,95
8	0,25	0,61	0,43	0,63	0,41	0,48	0,64	0,93	0,95	0,71
11	1,05	0,78	0,93	1,00	0,62	0,92	0,84	0,71	0,69	0,69
Gjennomsnitt	0,34	0,74	0,37	0,94	0,46	0,67	0,52	0,89	0,53	0,71

**Tabell E12:** Oversikt over tapshastighet for BAK fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40	-0,40
2	0,91	1,57	0,80	0,95	1,01	1,32	0,57	1,32	0,82	0,75
4	-0,04	0,70	0,27	2,18	0,62	0,61	1,04	1,68	0,38	1,86
5	0,72	1,51	0,11	1,55	0,57	1,23	0,33	1,64	0,93	0,81
6	-0,84	0,31	-0,10	0,42	-0,07	0,39	0,08	0,33	0,23	0,61
8	0,46	0,36	0,72	0,55	0,45	0,51	0,92	0,73	0,32	0,17
11	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,13	0,67	0,23	0,88	0,36	0,61	0,42	0,88	0,38	0,63

**Tabell E13:** Oversikt over spesifikk endringshastighet for BAK fra dag 0 til 11, samt gjennomsnitt for alle dager.

Mikrokosme	0C		0,5C		1C		2C		3C	
	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB	LB	HB
Dag										
0	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
2	-0,72	-1,16	-0,37	-0,60	-0,64	-1,14	-0,02	-0,87	-0,42	-0,13
4	0,39	0,01	0,00	-0,41	-0,15	0,05	-0,61	-0,15	0,01	-1,13
5	-0,50	-0,13	-0,11	-0,25	-0,06	-0,20	0,17	-0,12	-0,54	0,30
6	1,07	0,88	0,52	0,95	0,80	0,90	0,49	0,65	0,52	0,34
8	-0,21	0,25	-0,29	0,08	-0,04	-0,03	-0,28	0,20	0,63	0,54
11	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T	#I/T
Gjennomsnitt	0,09	0,06	0,05	0,05	0,07	0,02	0,05	0,04	0,12	0,07

**Tabell E14:** Gjennomsnittshastigheter ( $\pm SE$ ) for dag 2 til dag 6 for PCY og BAK for  $\mu$ ,  $t$  og  $r$ .

Mikrokosme	$\mu_{FDC}$ ( $d^{-1}$ )	$t$ (p+v) ( $d^{-1}$ )	$r$ ( $d^{-1}$ )	$\mu_{leucin}$ ( $d^{-1}$ )	$t$ (p+v) ( $d^{-1}$ )	$r$ ( $d^{-1}$ )
LB 0C	1,24 $\pm$ 0,2	1,24 $\pm$ 0,1	-0,06 $\pm$ 0,1	0,25 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,4	0,06 $\pm$ 0,4
LB 0,5C	1,25 $\pm$ 0,2	1,62 $\pm$ 0,1	-0,45 $\pm$ 0,1	0,28 $\pm$ 0,1	0,27 $\pm$ 0,2	0,01 $\pm$ 0,2
LB 1C	1,21 $\pm$ 0,2	1,61 $\pm$ 0,3	-0,31 $\pm$ 0,1	0,52 $\pm$ 0,1	0,53 $\pm$ 0,2	-0,01 $\pm$ 0,3
LB 2C	1,27 $\pm$ 0,3	1,48 $\pm$ 0,4	-0,39 $\pm$ 0,2	0,51 $\pm$ 0,03	0,50 $\pm$ 0,2	0,01 $\pm$ 0,2
LB 3C	1,28 $\pm$ 0,2	1,44 $\pm$ 0,4	-0,31 $\pm$ 0,2	0,48 $\pm$ 0,1	0,59 $\pm$ 0,2	-0,11 $\pm$ 0,2
HB 0C	1,28 $\pm$ 0,2	1,39 $\pm$ 0,1	-0,13 $\pm$ 0,2	0,92 $\pm$ 0,2	1,02 $\pm$ 0,3	-0,10 $\pm$ 0,4
HB 0,5C	1,27 $\pm$ 0,2	1,47 $\pm$ 0,2	-0,32 $\pm$ 0,3	1,20 $\pm$ 0,3	1,28 $\pm$ 0,4	-0,08 $\pm$ 0,4
HB 1C	1,27 $\pm$ 0,2	1,64 $\pm$ 0,1	-0,39 $\pm$ 0,2	0,79 $\pm$ 0,2	0,89 $\pm$ 0,2	-0,10 $\pm$ 0,4
HB 2C	1,12 $\pm$ 0,1	1,26 $\pm$ 0,3	-0,23 $\pm$ 0,3	1,11 $\pm$ 0,3	1,24 $\pm$ 0,3	-0,12 $\pm$ 0,3
HB 3C	1,29 $\pm$ 0,3	1,31 $\pm$ 0,4	-0,31 $\pm$ 0,4	0,85 $\pm$ 0,1	1,01 $\pm$ 0,3	-0,16 $\pm$ 0,3