

**K
O
M
P
E
N
D
I
U
M**



Kæmpegræs (Arundo), Fayal, Açores

ØKOLOGI II

FORSØG A

Indhold

<i>Forsøg 1</i>	<i>Produktionsmåling</i>	<i>side 3</i>
<i>Forsøg 2</i>	<i>BO₅ - bestemmelse</i>	<i>side 10</i>
<i>Forsøg 3</i>	<i>Forureningssimulering</i>	<i>side 17</i>
<i>Forsøg 4</i>	<i>Bestemmelse af nettoproduktionens omsætning</i>	<i>side 25</i>
<i>Forsøg 5</i>	<i>Påvisning af mikroorganismer i jord</i>	<i>side 33</i>
<i>Forsøg 6</i>	<i>Måling af respiration i jord</i>	<i>side 37</i>
<i>Forsøg 7</i>	<i>Bakterietælling og -farvning</i>	<i>side 41</i>
<i>Forsøg 8</i>	<i>Rhizobium-Lucerne symbiose</i>	<i>side 49</i>
<i>Forsøg 9</i>	<i>Azotobacter kultur</i>	<i>side 53</i>
<i>Forsøg 10</i>	<i>Populationstælling</i>	<i>side 57</i>
<i>Forsøg 11</i>	<i>Simulering af rovdyr-byttedyr forhold</i>	<i>side 63</i>
<i>Stikordsregister</i>		<i>side 65</i>

Indledning

Dette hæfte rummer vejledninger og forslag til forsøg, der kan anvendes til undersøgelse af økologiske sammenhænge.

Forsøgene illustrerer og uddyber teksten i hæfte I. Dog kan forsøgene godt udføres uafhængigt af tekstbindet.

Forsøgene kan udføres enkeltvis; men der er lagt op til forsøgene kan supplere hinanden.

Q Q Q

Forsøg 1

Produktionsmåling



Hvedemark; Venø 1996

Thorkild Steenberg

I forsøget foretages en biomassebestemmelse på en enårig markafgrøde (hvede, raps, majs, el. lign) eller/og en flerårig græsmark¹.

Ud fra biomassebestemmelsen foretages et skøn over netto- og bruttoproduktionen.

Q Q Q

¹

Bearbejdet efter:
Poul Breum & Per Geckler:

Menneskets økologi, etologi og genetik, Nucleus 1978

Forsøgsudførelse

A Biomassebestemmelse på en enårig afgrøde (majs, hvede, raps, byg el. lign.)

Udtag en passende prøve af afgrøden (fx 30 X 30 cm). Noter størrelsen. Del planterne i rødder, stængler/blade og aks. Evt. jord på rødderne børstes eller skylles af.

Bestem vådvægten af plantedelene.

Pak hver del løst i staniol og lad dem tørre i varmeskab (105 °C) et par døgn.

Bestem tørvægten af plantedelene.

B Biomassebestemmelse i vedvarende græs

Grav en repræsentativ græstørv op, således at alle roddele kommer med. Noter størrelsen af græstørven.

Split græstørven ad. Vask omhyggeligt jorden af rødderne og del planterne i rødder, stængler/blade/blomster og frø.

Pak hver del løst i staniol og lad dem tørre i varmeskab (105 °C) et par døgn.

Bestem tørvægten af plantedelene.

Foretag et skøn over fordelingen på enårige planter, flerårige planter, græsser og urter.

Q Q Q

Beregninger

Beregninger kan foretages manuelt efter punkterne A og B nedenfor eller ved hjælp af regnearksprogrammet Produktionsmåling (til QuatroPro), punkt C.

- A** Udfyld resultatskema. Beregn vandindhold i afgrøden.
Beregn biomassen i g pr m².
Omregn ved hjælp af tabellen tørvægtene til energi og udtryk biomassen i kj/m².
Denne biomasse sættes lig med NP evt. med fradrag for udsæd (se tabellen).
Beregn forholdet mellem overjordisk og underjordisk biomasse (eller overjordisk og underjordisk biomasse i procent af den totale biomasse). Foretag på basis heraf et skøn over respirationen og beregn BP.

Beregn frøbiomassen i procent af den totale biomasse.
Beregn energiudnyttelsen (effektiviteten) i systemet (se tabel for solindstråling).

- B** Udfyld resultatskema. Beregn biomassen i g pr m².
Omregn ved hjælp af tabellen tørvægtene til energi og udtryk biomassen i kj/m².
Foretag et skøn over overvintret biomasse (fx 33 % hvis der er næsten udelukkende flerårige planter). Træk det fra den fundne biomasse og sæt dette resultat lig med NP.
Beregn forholdet mellem overjordisk og underjordisk biomasse (eller overjordisk og underjordisk biomasse i procent af den totale biomasse). Foretag på basis heraf et skøn over respirationen og beregn BP.

Beregn frøbiomassen i procent af den totale biomasse.
Beregn energiudnyttelsen (effektiviteten) i systemet (se tabel for solindstråling).

- C** Start regnearksprogrammet Produktion (eller Produktionsmåling).
Regnearket starter med en tom beregningskabelon.
Følg fremgangsmåden i hjælpeteksten. Udskriv det færdigudfyldte skema og oversigtsskemaet med tidligere resultater til sammenligning.

Diskussion

Diskuter rimeligheden af de antagelser, der er foretaget under beregningerne. Vil det være en undervurdering eller en overvurdering af den faktiske NP, at beregne den på den anvendte måde?

Er der forskel på forholdene mellem overjordisk og underjordisk biomasse for A og B? Hvordan kan det i givet fald forklares?

Hvilke faktorer er ansvarlige for at effektiviteten er så ringe?

Q Q Q

OMTRENTLIGT ENERGIINDHOLD I PLANTEMATERIALE ²	kJ/g
Blade og stængler	17,8
Rødder	19,8
Frø	21,2
Solindstråling ³ [MJ/m ² /år]	3600
Udsæd (skøn) [g/m ²]	18

Tabel 6.

Tabelværdier for energiindhold, solindstråling og udsæd. Tallene for energiindhold er gennemsnitsværdier af målinger på 57 forskellige plantearter.

Q Q Q

² **Frank B. Golley:** *Energy values of ecological materials. Ecology, 42: 581-584. 1961.*

³ **B. Overgaard Nielsen:** *Stof og energi i naturen. Haase 1975.*

Resultatskema

Måleresultater

	vådvægt	tørvægt	vandindhold	AFGRØDE
	g	g	%	
Frø				
Stængler, blade, m.m.				
Rødder				
Total				
PRØVEFLADE: m²				

Beregnete resultater

	BIOMASSE		NP	R	BP	EFFEKTIVITET	
	g/m ²	kJ/m ²	kJ/m ² /år	(skøn)	kJ/m ² /år	BP/I %	NP/I %
Frø							
Stængler, blade, m.m.							
Rødder							
Total							
Frøbiomasse i % af vægttotal:							
Frøbiomasse i % af energitotal:							
Overjordisk biomasse i % af total:			Underjordisk biomasse i % af total:				

Forsøg 2

MÅLING AF BIOLOGISK OXYGEN- FORBRUG (BO_5) I VANDPRØVER

Til rutinebedømmelse af et vandøkoscystems forureningstilstand eller af den belastning, som en spildevandsudledning i et vandøkoscystem ville have, anvender man en BO_5 -analyse.

BO_5 -analysen er en biologisk-kemisk standardmetode, som indirekte viser hvormeget letomsætteligt organisk stof, der er i økoscystemet eller i spildevandet.

Man måler det biologiske iltforbrug (dvs. især mikroorganismernes iltforbrug) i en passende fortyndet prøve af systemet eller af spildevandet i løbet af 5 døgn (± 1 time) i mørke ved $20\text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$) ($BO_5 = \text{Biologisk Oxygenforbrug pr liter pr } \underline{5} \text{ døgn}$)⁴.

Q Q Q

4

Metode efter:

1 **Tom Fenchel og Barbara Hemmingsen:** *Manual of microbial ecology.* Akademisk forlag 1974

2 **Anon.:** *Limnologisk metodik.* Københavns Universitet, Ferskvandsbiologisk Laboratorium. Akademisk Forlag 1977.

Metode

En vandprøve fortyndes med iltrigt ledningsvand.

Fortyndingen bør ideelt vælges så 40-70 % af den oprindelige iltmængde i den fortyndede prøve forbruges i løbet af prøvetiden (5 døgn). Fortyndingen afhænger altså af vandprøvens forventede iltforbrug, som ikke er kendt på forhånd.

For at ramme intervallet kan det være nødvendigt at anvende to eller tre fortyndinger. En fortynding mellem 1:19 og 1:49 vil være passende til BO_5 -måling i moderat til kraftigt forurenede vandøkossystemer.

Fortyndingen hældes på to 100 ml glasflasker med slebet prop. Iltindholdet i den ene flaske bestemmes straks ved Winklertitrering.

Det giver **startværdien**: $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ til rådighed i flasken.

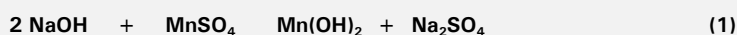
Efter fem døgn henstand ved 20°C i mørke bestemmes iltindholdet i den anden flaske.

Det giver **slutværdien**: $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ tilbage i flasken.

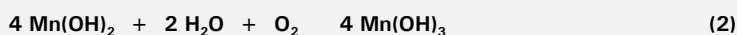
Differencen mellem startværdi og slutværdi ganget med fortyndingsfaktoren (20-50) giver BO_5 -værdien.

Winklertitreringsmetode til iltbestemmelse i vandprøver:

Ved sammenblanding af W.1 og W.2 dannes manganhydroxid:



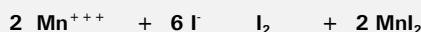
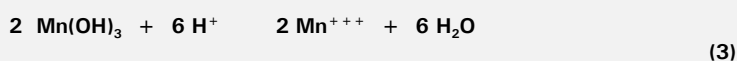
Manganhydroxiden oxideres af den ilt, der er opløst i vandet, og der dannes et bundfald af manganihydroxid:



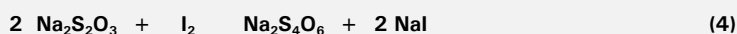
Bundfaldet opløses ved tilsætning af koncentreret saltsyre.

De frigjorte manganiioner (Mn^{+++}) oxiderer iodidionerne (I^-) til frit iod (I_2), som farver væsken gul.

(Iodidionerne er tilsat med W.1 opløsningen i starten):



Endeligt bestemmes mængden af af frigjort iod ved titrering med thiosulfat (stivelse anvendes som indikator; omslag fra blåsort til farveløs):



Resume: 4 mol $\text{S}_2\text{O}_3^{--}$ svarer til 2 mol I_2 (reaktion 4), der svarer til 4 mol Mn(OH)_3 (reaktion 3), som atter svarer til 1 mol O_2 (reaktion 2).

1 mol thiosulfat svarer til 1/4 mol ilt.

Materialer:

2 stk 100 ml glasflasker med slebet prop, 1 stk 250 ml eller 500 ml målekolbe, 3 stk 1 ml målepipetter og 1 stk fuldpipette passende til den valgte fortynding, pipettebolde, koncentreret HCl, staniol.

Winkleropløsning 1: 500 g NaOH og 150 g KI i 1000 ml demineraliseret vand.

Winkleropløsning 2: 400 g MnSO₄ i 1000 ml demineraliseret vand.

Til titrering:

0,01 M Na₂S₂O₃: 2,482 g Na₂S₂O₃·5 H₂O opløses i demineraliseret vand til 1,00 l, derefter tilsættes 1 g Na₂CO₃; eller standardampul fortyndet med demineraliseret vand.

stivelsesopløsning: 1 g stivelse opløses i 100 ml varm, mættet NaCl opløsning (357 g NaCl/l).

10 ml titrerburette, pipettebold, magnetomrører og små bægerglas eller koniske kolber (150 ml).

Fremgangsmåde

- A: Find rumfanget af glasflaskerne ved at trække den tomme flaskes vægt fra vægten af flasken fyldt med vand (begge gange med prop isat).
- B: Afpipetter med fuldpipette en passende prøve over i en målekolbe (ved fortynding 1:49 afpipetteres 5 ml over i en 250 ml kolbe).
Fyld op til strengen med frisk ledningsvand og omryst kolben.
Lad den stå mørkt 15 min (der må ikke være luftbobler i vandet).
Fyld fortyndingen i flaskerne (helst med hævert så yderligere iltning undgås).
Sæt propperne i uden at der fanges luftblærer.

Lad den ene flaske stå mørkt i varmeskab til der er gået 5 døgn (flasken kan evt. pakkes ind i staniol). Varmeskabet stilles til 20 °C.

Tilsæt derefter Winkleropløsningerne til flasken (punkt C).

Den anden flaske behandles straks efter punkt C.

- C: Tilsæt 1 ml Winkleropløsning 1 til flasken og umiddelbart derefter 1 ml Winkleropløsning 2 (dyp ikke pipetterne ned i flasken). Brug pipettebolde! Sæt proppen i (undgå luftblærer) og omryst.

Sæt flasken mørkt mindst 30 minutter. Tilsæt derefter 1 - 2 ml koncentreret

saltsyre. Sæt proppen i igen og ryst flasken til bundfaldet er opløst. Hæld indholdet i et bægerglas og titrer med thiosulfat til farveomslag. Et par dråber stivelse kommes i som indikator. Forbruget af thiosulfat aflæses med 2 decimalers nøjagtighed og anvendes i beregningerne.

Beregninger

Forbruget af thiosulfat (x ml) ganget med thiosulfatens molaritet ($M = 0,01 \text{ mmol ml}^{-1}$) giver det antal mmol thiosulfat, der er forbrugt ved titreringen (reaktion 4 i metodeoversigten side 10).

Dette tal ganget med 1/4 giver antal mmol ilt i flasken.

Derefter omregnes til mg O_2 ved at gange med iltens molmasse (32 mg mmol^{-1}).

Endelig udtrykkes iltindholdet i mg $\text{O}_2 \text{ l}^{-1}$ flaskevand ved division med flaskens rumfang (minus 2 ml Winkleropløsninger):

$$\text{iltindhold} = \frac{\left(\frac{x \text{ ml } 0,01 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}}}{4} \right) 32 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}}}{(FR \text{ ml} - 2 \text{ ml}) 10^{-3} \frac{\text{l}}{\text{ml}}}; \text{ [mg } \text{O}_2 \text{ l}^{-1}\text{]}$$

som kan forkortes til:

$$\text{iltindhold} = \frac{x \text{ [i ml]} 80}{FR \text{ [i ml]} - 2}; \text{ [mg } \text{O}_2 \text{ l}^{-1}\text{]}$$

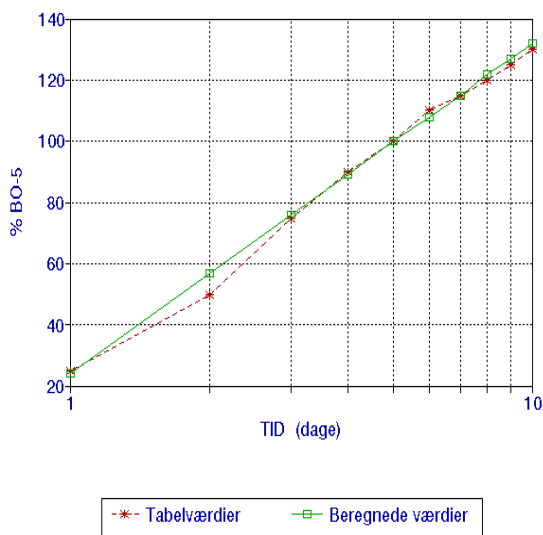
Iltforbruget (BO_5 -værdien) beregnes derefter ved at trække iltindholdet i slutflasken fra iltindholdet i startflasken og gange med fortyndingsfaktoren:

$$\text{BO}_5 = \text{fortynding} * (\text{start-iltindhold} - \text{slut-iltindhold}); \text{ [mgO}_2 \text{ l}^{-1}\text{]}.$$

Har forsøgstiden ikke været 5 døgn, kan en tilnærmet BO_5 -værdi beregnes:

$$BO_5 = \frac{BO_x}{0,24 + 0,47 \ln x} ; x = \text{antal døgn}$$

BO₅-værdierne kan korrigeres (tilnærmede værdier) for kortere eller længere forsøgstid end standardforsøgstiden 5 døgn ved hjælp af formelen ovenfor eller nedenstående tabel eller graf⁵.



DØGN	% BO ₅ (tabelværdi)	% BO ₅ (beregnet)
1	25	24
2	50	57
3	75	76
4	90	89
5	100	100
6	110	108
7	115	115
8	120	122
9	125	127
10	130	132

Q Q Q

Diskussion

Hvad måler man ved en BO_5 -analyse?

Sammenlign resultatet med tabelværdierne i tabel 26 og 27 i hæfte I; hvilken forureningstilstand er der tale om?

Vurder resultatets og metodens anvendelighed og pålidelighed.

Mikroskoper en vandprøve fra økosystemet og undersøg den for karakteristiske organismetyper, fx:

<i>infusionsdyr</i>	<i>hjuldyr</i>	<i>grønalger</i>	<i>bakterier</i>
<i>flagellater</i>	<i>rundorme</i>	<i>kiselalger</i>	<i>cyanobakterier</i>
<i>grønne</i>	<i>krebsdyr</i>		
<i>flagellater</i>			

Udregn evt. et saprobieindeks for systemet på basis af organismetyperne⁶.

Giver det samme resultat som BO_5 -analysen?

Sammenlign de to typer forureningsanalyse.

Q Q Q

⁶

Oplysninger kan findes i fx:

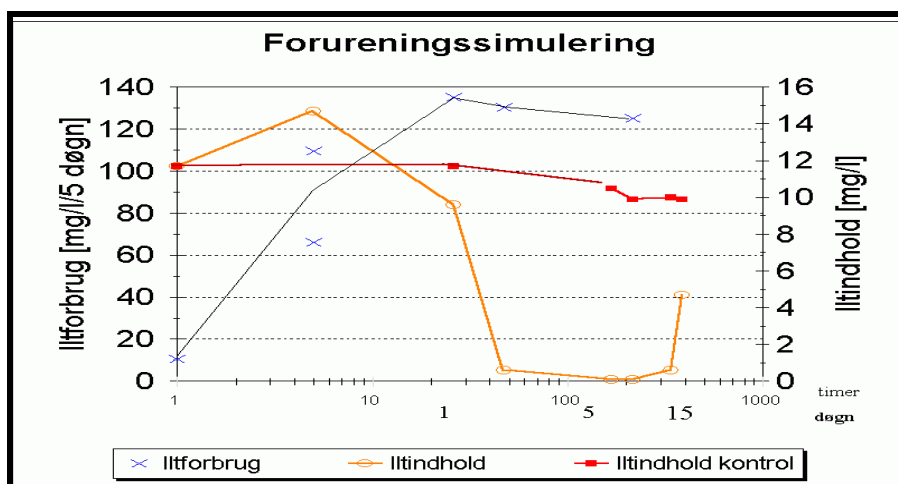
1	S. E. Abrahamsen:	<i>Biologiske Ferskvandsundersøgelser. Forum 1976.</i>
2	H. Liebmann:	<i>Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie. München 1962.</i>
3	V. Sladeczek:	<i>System of Water Quality from the Biological Point of View. Ergebnisse der Limnologie, Heft 7. Archiv für Hydrobiologie, Stuttgart 1973.</i>

Forsøg 3

Forureningssimulering

I forsøget undersøges hvordan en model-sø reagerer på en forurening med organisk stof.

Ud over at måle ændringerne i iltindholdet og iltforbruget kan forsøget udvides til at undersøge bakterievæksten og ændringerne i ammoniak-, nitrat- og fosfatindholdet i vandet.



Eksempel på resultater fra et forureningssimuleringsforsøg.

Q Q Q

Materialer:

*Tre eller flere 3 liters koniske kolber eller store sylteglas.
Søvand.*

*Materialer til måling af iltforbrug (Winkler metode, jvf side 11):
Winklerreagens 1 og 2, 100 ml glasflasker med slebet prop, konc. saltsyre,
natriumthiosulfat (0,1 M eller 0,01 M),
stivelsesopløsning (indikator ved titrering),
titrerburette og magnetomrører,
pipetter og målekolber til fortynding.*

*Iltelektrode.
Evt. udstyr til bakterietælling; evt. udstyr til måling af ammoniak, nitrat og fosfat.*

Fremgangsmåde:

Fyld søvandet i kolberne eller glassene så der er 2,5 l i hver.
Lad vandet stå et døgn således at iltindholdet stabiliseres. Mærk kolberne eller glassene A, B, C, .. og Kontrol.

Mål iltindholdet med iltelektroden i alle kolberne eller glassene.
Tag en prøve fra til BO_5 -bestemmelse (fortynding til 1/10). Se fremgangsmåden i vejledningen til BO_5 forsøget (side 10 og 11).

Tilsæt 1 ml mælk (eller 1 g opløst stivelse samt 0,1 g kødekstrakt) pr liter vand til forsøgskolberne A, B, C etc.
Udtag straks efter prøver til BO_5 -bestemmelse (fortynding til 1/10) og mål iltindholdet med iltelektroden i alle kolberne.
Udtag med passende intervaller (fx. 2 timer, 4 timer, 1 døgn, 2 døgn, 5 døgn, 10 døgn, etc) prøver til BO_5 -bestemmelse og mål iltindholdet med iltelektroden.

Fortyndingen ændres undervejs til 1/20 (4-5 timer) og 1/50 (1-5 døgn).

Noter omhyggeligt prøvetidspunkt og dato og tid for BO_5 -prøvens start og slut (dvs når Winkler opløsningerne tilsættes).

Prøver fra kontrolkolben tages med større intervaller (fx. 1 døgn, 5 døgn, etc).

Fortynding til 1/10.

Noter lugt og udseende af kolberne.

Prøver kan evt. tages fra til bakterietælling (se vejledning side 41) og til bestemmelse af ammoniak-, nitrat- og fosfatkoncentrationen.

Resultatbehandling

Beregn start-iltindhold og slut-iltindhold for hver BO_5 -prøve. Beregn iltforbruget ved at trække *slut-iltindhold* fra *start-iltindhold* og gange med fortyndingsfaktoren. Beregn forsøgstiden ved hjælp af start- og sluttidspunkterne og korriger derefter iltforbruget (BO_x) til BO_5 (jvf. side 13):

$$BO_x = \text{fortynding} * (\text{start-iltindhold} - \text{slut-iltindhold}) ; [\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}]$$

$$BO_5 = \frac{BO_x}{0,24 + 0,47 \ln x} ; x = \text{antal døgn}$$

Sæt de beregnede resultater ind i resultatskemaet.

Alternativt kan resultaterne beregnes og udskrives på skemaform ved hjælp af regnearksprogrammet Simulering (Simul.wb1 ") til QuatroPro.

Følg vejledningen i programmet.

Indtegn iltindhold og BO_5 -værdierne i et diagram som funktion af prøvetidspunktet (timer eller døgn fra start, som sættes til tiden 0).

Diskussion

Hvad viser forsøget?

Hvorfor stiger iltforbruget efter tilsætningen af mælk?

Hvorfor bliver kolberne grønne af alger?

Hvordan ville du tegne bakteriemængden i kolberne som funktion af tiden?

Er der den samme mængde kvælstof i kolberne nu, som da mælken blev tilsat?
Hvordan er kvælstoffet i mælken blevet omsat?

Q Q Q

Forsøg 4

Undersøgelse af nettoprimærproduktionens omsætning i en skov.

I forsøget undersøges hvor mange procent af nettoprimærproduktionen, der omsættes gennem græsningsfødekæden og gennem nedbryderfødekæden i en skov⁷.



Egeblad med gnav af egevikler.
(Natur & Museum 13, 1-2. 1968)

⁷

Bearbejdet efter Kaskelot Pædagogiske Sænumre nr 33, 1980.

Materialer:

en pose tilfældigt valgte, nyfaldne blade fra en skovbund, sakse, papir, spidse blyanter, analysevægt.

Fremgangsmåde:

Sorter bladene efter planteart.

Hver person eller gruppe tager tilfældigt mindst fem (gerne ti eller flere) blade af en eller flere plantearter (undgå blade helt uden huller).

Bladet lægges fladt udstrakt på et stykke papir, og bladets omrids tegnes. Hvis dele af bladet mangler, tegnes omridset som om, der ikke manglede noget.

Indtegn samtlige huller i bladet på papiret ved siden af tegningen af bladomridset.

Klip det hele blad og alle "hullerne" ud og vej begge dele på analysevægten.

Beregninger og diskussion

Udregn hvor mange % af bladet, der er blevet spist og saml alle resultater i et skema (hver art for sig).

Udregn gennemsnitsværdi og spredning for hver art.

Er der forskel på plantearternes fortæringsgrad?⁸

Hvilke arters blade ligger længst tid i genkendelig form i skovbunden?

Hvilke nedbrydere omsætter bladene?

Hvordan kan man forklare eventuelle forskelle i nedbrydningshastighed?

Forsøg at identificere de planteædere, der har ædt af de undersøgte blade (se figuren på næste side og figuren på titelbladet⁹).

Skitsér nogle konkrete fødekæder, som dyr og blade kunne være del af.

Vurder metodens anvendelighed og resultaternes pålidelighed.

⁸

Vejledning i statistisk behandling af forsøgsresultater se:

Thorkild Steenberg: *Om Vurdering af Talmateriale.*

⁹

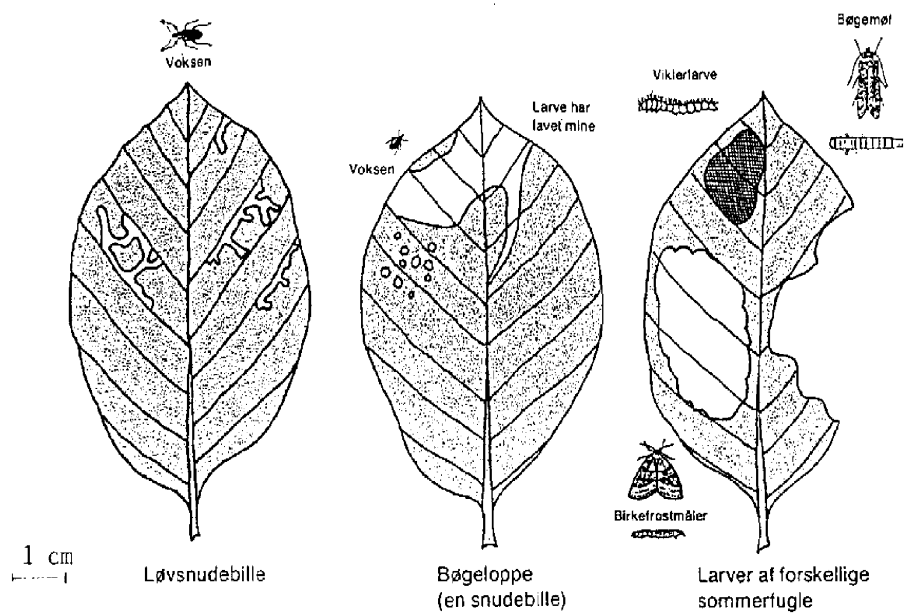
Se fx følgende litteratur:

1 **B. Overgaard Nielsen:** *Bladminer på træer og buske.*

Natur & Museum 10. årg. nr 1-2. 1964.

2 **O. Zethner-Møller:** *Skadelige insekter og svampe på skovtræer. 2. Løvtræer.*

Natur & Museum 13. årg. nr 1-2. 1968.



Figur 27. *Eksempler på gnavespor på bøge og egeblade.*
(Kasketot Pædagogiske Særunumre nr 33)

Q Q Q

