

# Havforskning fra Miljøstyrelsen

nr. 5 1991

## Bestemmelse af phytoplanktonets totale stofproduktion



## Om Hav-90 forskningsprogrammet

Hav-90 forskningsprogrammet skal

- bidrage til at evaluere effekterne af den iværksatte Vandmiljøplan.
- styrke beslutningsgrundlaget for de forholdsregler, der skal tages i fremtiden for at imødegå stigende eutrofiering - og dermed beskytte havmiljøet omkring Danmark.

Denne rapport er én af de ca 45 rapporter, der udsendes som et resultat af Hav-90 forskningsprogrammet. Med Miljøstyrelsen som ansvarlig for programmets gennemførelse, er der sat ca 50 Hav-90 projekter i gang ved 15-20 institutioner.

I forbindelse med Folketingets vedtagelse af Vandmiljøplanen i 1987, blev det aktuelt at få en bedre forståelse af de fysiske og kemiske processer samt de biologiske effekter i de danske havområder. Herudover var der behov for en undersøgelse af, hvilken påvirkning der sker i havområderne ved tilførsel af forurenende stoffer fra atmosfæren og de tilstødende udenlandske farvande. På baggrund heraf fandt vi det hensigtsmæssigt at udvikle modeller til beskrivelse af vand- og stoftransporten samt selve stofomsætningen i de danske farvande.

Med henblik på at skabe en større viden indenfor dette område/de danske havområder besluttede Folketinget - i forbindelse med Vandmiljøplanens vedtagelse - at afsætte 85 mio.kr. til et forskningsprogram, der skulle løbe over en 5-årig periode fra 1988 til udgangen af 1992.

I 1987 nedsatte Miljøministeren derfor et rådgivende ekspertorgan, der skulle bistå Miljøstyrelsen, dels ved planlægning af den fremtidige havmiljøforskning, og dels ved at sikre en såvel faglige som økonomiske afvejning af denne forskning. Forskningen blev delt i 4 hovedområder, og der blev nedsat 4 koordinationsgrupper, som hermed har fået faglig ansvar for hvert sit område:

- Stofomsætningen og -transporten i kystvandene, herunder belastningernes effekt på samme
- Stofomsætningen i de frie vandmasser
- Sedimentets rolle i stofomsætningen
- Meteorologiske processers betydning for eutrofieringsforholdene

Rapporterne udsendes i serien: »Havforskning fra Miljøstyrelsen»

Miljøstyrelsens Vandkvalitetskontor har været sekretariat for Hav-90 forskningsprogrammet, og har sammen med koordinationsgrupperne stået for redaktionen af denne rapportserie.

# **Havforskning fra Miljøstyrelsen**

nr. 5 1991

## **Bestemmelse af phytoplanktonets totale stofproduktion**

Bo Riemann  
Vandkvalitetsinstituttet

Lars Møller Jensen  
Det Danske Hedeselskab

**Miljøministeriet  
Miljøstyrelsen**



# Indhold

<b>Resume</b>	<b>side 5</b>
<b>1. Indledning</b>	<b>6</b>
<b>2. Materialer og metoder</b>	<b>7</b>
2.1 Algekulturer	7
2.2 Naturlige algepopulationer	7
2.3 Filtreringsmetoden	8
2.4 ABM-metoden	8
2.5 Toksicitetstest	9
2.6 Spektral karakteristisk af glasvials	9
2.7 Opbevaring af prøver	9
<b>3. Resultater</b>	<b>10</b>
3.1 Toksicitet og spektralkarakteristik	10
3.2 Opbevaring af prøver	10
3.3 Bobling af prøver	11
3.4 Sammenligning mellem ABM og filtreringsmetoden	12
<b>4. Diskussion og konklusion</b>	<b>15</b>
<b>5. Referencere</b>	<b>17</b>
5.1 Part 1	17
5.2 Part 2	17
<b>Registreringsblad</b>	



# Resume

Det var projektets overordnede formål at standardisere en metode til måling af planteplanktonets totale stofproduktion – det vil sige summen af opløst og partikulær primærproduktion. Traditionelt bestemmes primærproduktionen ved hjælp af  $^{14}\text{C}$ , som tilsættes en vandprøve. Efter inkubation filtreres algerne på et filter, og radioaktiviteten på filteret bestemmes. Under filtreringen kan mange alger gå i stykker, hvorved radioaktiviteten tabes fra filteret. Endvidere vil den del af stofproduktionen, som udskilles fra algerne under forsøget, ikke blive målt. For at undgå disse fejlkilder i bestemmelse af stofproduktionen er det muligt at fjerne det overskydende uorganiske  $^{14}\text{C}$  ved forsuring og gennemblæsning af vandprøven (*Acidification and Bubbling Method*, ABM). Det antages herved, at resten af det radioaktive materiale er produceret af algerne og er tilstede i opløst eller partikulær form. I en række undersøgelser med algekulturer og naturlige algepopulationer kunne vi vise, at ABM metoden giver en mere korrekt bestemmelse af den aktuelle stofproduktion, idet der ikke indgår filtreringsartefakter og, at den opløste stofproduktion indgår i bestemmelsen. Endvidere er det eksperimentelle arbejde reduceret, vandprøverne kan opbevares efter inkubation og præcisionen er bedre end den man opnår med den traditionelle filtreringsprocedure. Resultaterne fra ABM metoden er altid større end de resultater, der opnåes ved anvendelse af den traditionelle filtreringsmetode. Enkeltværdier fra marine områder gav op til 2 til 3 gange højere værdier med ABM metoden, og resultater fra Limfjorden viste, at på årsbasis gav ABM metoden gennemsnitligt 57% højere produktion end den partikulære produktion. Resultater fra 2 »åbne stationer i henholdsvis Storebælt og Øresund viste forskelle på mindre end 10% mellem de to metoder. Forskelle i algesamfundene kan muligvis forklare disse forskelle opnået på forskellige lokaliteter.

# 1. Indledning

## *Ilt og $^{14}\text{C}$ metoder*

Fytoplanktonets primærproduktion kan i princippet bestemmes ud fra alle komponenter i den fotosyntetiske produktion af ilt og organisk stof fra kuldioxid og vand (Peterson 1980; Søndergaard & Jensen 1986). To metoder er almindeligt anvendte: bestemmelser af den producerede ilt og  $^{14}\text{C}$  teknikken, som bestemmer forbruget af kuldioxid. Iltmetoden kan kun anvendes i søer og i kystområder, hvor stofproduktionen er høj.  $^{14}\text{C}$  teknikken er langt mere følsom, og kan derfor anvendes til måling af selv lave stofproduktioner. Den traditionelle  $^{14}\text{C}$  procedure omfatter bestemmelser af den partikulære stofproduktion. I løbet af de sidste 15 år er man imidlertid blevet opmærksom på, at tab af opløst organisk stof fra planteplankton er en vigtig proces i de frie vandmasser, og at stofproduktionen undervurderes væsentligt, hvis kun den partikulære produktion måles (Nalewajko 1977; Fogg 1977). Direkte bestemmelser af den opløste stofproduktion omfatter en differentialfiltreringsteknik, hvor algerne partikulære stofproduktion måles sammen med bakterierne optagelse af det opløste stof samt puljen af det opløste stof (Derenbach & Williams 1974). Teknikken er tidsrøvende og derfor ikke velegnet i rutinemæssige sammenhænge.

## *Tab af opløst organisk stof*

## *ABM metoden*

I 1972 introducerede Schindler et al. en metode til bestemmelse af den totale  $^{14}\text{C}$  fiksering uden filtrering. Metoden omfattede fjernelse af uorganisk  $^{14}\text{CO}_2$  ved førsuring, efterfulgt af gennembobling af den førsurede prøve med atmosfærisk luft. Det blev antaget, at den tilbageblevne radioaktivitet var organisk stof produceret af planteplanktonet i form af partikler eller i opløst form. Resultater opnået med denne teknik repræsenterer kun en tilnærmet værdi for den totale stofproduktion, idet respiration af det opløste organiske stof af mikroheterotrofe organismer (som f.eks. bakterier) og algerne egen respiration fjerner noget af det producerede stof. Schindler et al. (1972) viste, at resultaterne opnået med ABM metoden var højere end resultater opnået med filtreringsmetoden. Schindler's metode er ikke blevet anvendt meget siden. En af forklaringerne på denne manglende succes er formentligt, at den aldrig er blevet standardiseret på et større antal prøver.

## *Formål*

Hovedformålet med dette projekt var at undersøge mulighederne for at anvende ABM metoden til rutine bestemmelser af planteplanktonets primærproduktion. En væsentlig del af projektet omfattede metodestudier vedrørende anvendelse af inkubations-flasker, opbevaring og bobling af prøver samt at sammenholde resultater med ABM metoden med resultater fra den traditionelle filtreringsmetode.



## 2. Materialer og metoder

### 2.1. Algekulturer.

#### Batch kulturer

Batch kulturer af ferskvandsgrønalgerne *Selenastrum capricornutum* og *Scenedesmus acutus* og de marine kiselalger *Phaeodactylum tricornutum* og *Skeletonema costatum* blev anvendt. Ferskvandsalgerne blev dyrket i et modificeret Österlind medium (Steemann Nielsen & Wium-Andersen 1970). De marine alger blev dyrket i naturligt havvand (S‰ = 25). Belysning var  $198 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Phillips TL 20 W/33) i 12 timer alternerende 12 timers mørke. Temperaturen var 20°C. Celletællinger med haemocytometer blev anvendt til at kontrollere algernes vækst.

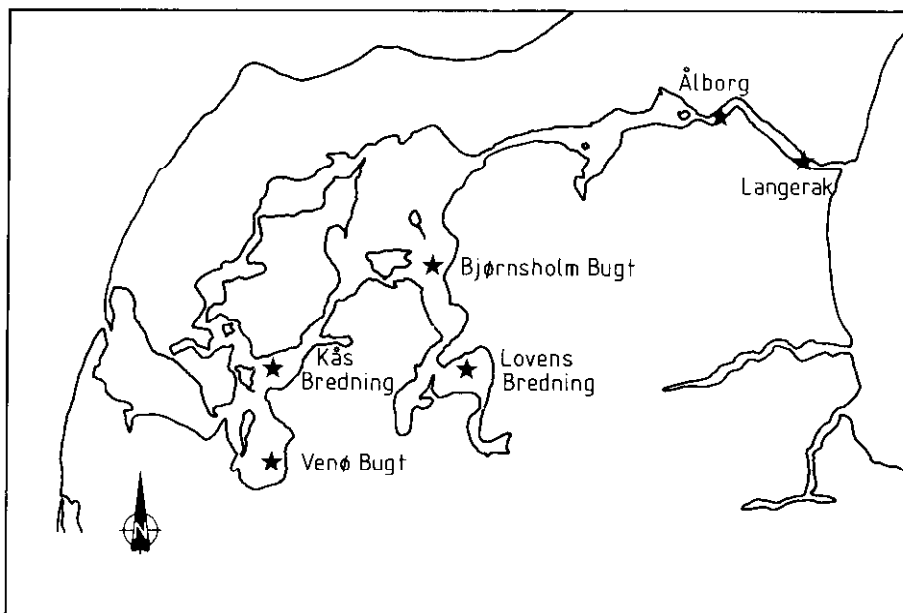
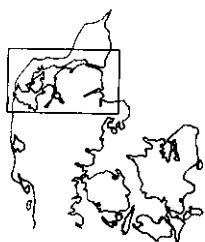
### 2.2. Naturlige algepopulationer.

#### Prøvetagning i Limfjorden

Vandprøver blev taget 10-12 gange i 1989 fra 6 stationer i Limfjorden (fig. 1). Diskrete vandprøver blev udtaget med en 3 liters plastik vandhenter fra 4 dybder i vertikalet. Prøverne blev transporteret i køleboks til laboratoriet og inkuberet i lysinkubator i 2 timer ved *in situ* temperaturer efter dansk standard (DS 293). Den absolute indstråling blev målt med en Li-Cor undervands quantum sensor.

#### Prøvetagning i Øresund

I Øresund blev der indsamlet prøver fra 2 stationer igennem vækstsæsonen 1990. Station 1:  $55^{\circ} 37,92 - 12^{\circ} 31,55$  har en vanddybde på 4,5 m, og der blev udtaget vandprøver fra 0,5, 2 og 4 meters dybde. Station 3:  $55^{\circ} 43,05 - 12^{\circ} 38,18$  har en vanddybde på 13 m, og der blev taget vandprøver fra 0,5, 4, og 12 meters dybde. Prøver til filtrering og til analysering efter ABM metoden blev eksponeret under samme lysforhold og resultaterne er præsenteret som DMP per 10 ml prøve.



Figur 1. Kort over Limfjorden med angivelse af stationer.

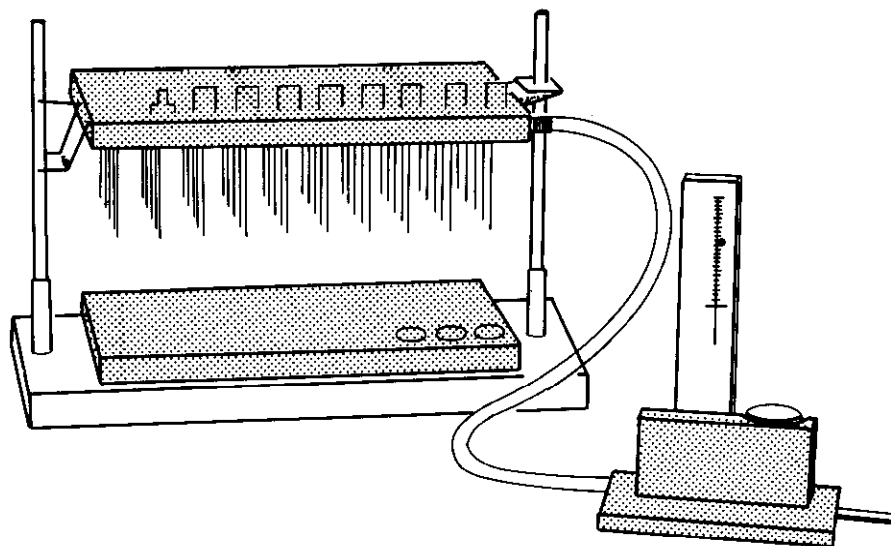
I Storebælt blev der indsamlet prøver fra 1 station gennem vækstsæsonen 1990 (SIFB 670-0053), 55° 30,53 N - 10° 51, 83 Ø. Stationen har en vanddybde på 12 m, og der blev udtaget vandprøver fra 1, 3 og 10 meters dybde. Prøverne blev inkuberet og beregnet som prøverne fra Øresund.

### 2.3. Filtreringsmetoden.

Den partikulære primærproduktion blev målt efter Steemann Nielsen (1952). Alle inkubationer blev udført i 25 ml Jena flasker og der blev tilsat  $2,0 \mu\text{Ci NaH}^{14}\text{CO}_3$  (Carbon 14 Centralen, Hørsholm) til hver flaske. Umiddelbart efter inkubation blev indholdet af hver flaske filtreret gennem et  $0,2 \mu\text{m}$  Sartorius cellulose nitrat membran filter. Filtrerne blev lagt i HCl dampe i 5 min, opløst i 10 ml scintillationsvæske (Filter Count, Packard) og opbevaret minimum 12 timer før tælling i scintillationstæller (LKB, Vallac, Packard).

### 2.4. ABM-metoden.

Alle inkubationer blev udført i 20 ml glas vials (lavt kalium indhold) og der blev tilsat  $2,0 \mu\text{Ci NaH}^{14}\text{CO}_3$  (Carbon 14 Centralen, Hørsholm). Efter inkubation blev der tilsat  $50 \mu\text{l } 1 \text{ N HCl}$  per 10 ml prøve indeholdende algekulturer eller naturlige algepopulationer. Glasvials blev herefter stillet åbne i stinkskaab i 24 timer eller boblet med luft i 30 min. Bobling blev udført i en nykonstrueret manifold med kapacitet til 50 prøver (fig. 2). Et tryk på 34 kPa og tynde nåle sikrede konstant gennembobling i alle prøver. Efter opbevaring eller bobling blev der tilsat 10 ml scintillationsvæske (Instagel, Packard) per 10 ml prøve og prøverne blev talt som beskrevet ovenfor.



Figur 2. Manifold til bobling af forsurede vandprøver. Vandbalancen til højre i billede anvendes til at justere trykket.

## 2.5. Toksicitetstest.

### *Toksicitetstest*

Giftighed af lågene fra glasvials anvendt til inkubation blev testet ved at måle 2-timers  $^{14}\text{C}$  optagelse af kulturer af *Phaeodactylum tricornutum* tilsat vandekstrakt af låg. Til kontroller blev der tilsat samme volumen kunstigt havvand uden påvirkning af låg. Vandekstraktet blev fremstillet ved at opbevare 40 låg i 24 timer i 100 ml kunstigt havvand. Resultaterne fra alger tilsat vandekstrakt blev sammenholdt med resultater fra kulturer uden vandekstrakt.

## 2.6. Spektral karakteristik af glasvials.

### *Spektral karakteristik af glasvials*

Disse undersøgelser blev udført ved at sammenholde transmission af lys ved forskellige bølgelængder (300-800 nm) gennem 20 ml glas vials med transmission af lys gennem 25 ml Stejlbrust flasker (Duran). Der blev anvendt et Shimadzu UV160 spektrofotometer. Resultater fra en række indledende forsøg viste, at der ikke var forskel i spektralkarakteristik mellem 25 ml Duran og Jena flasker.

## 2.7. Opbevaring af prøver.

### *Fiksering og opbevaring af $^{14}\text{C}$ prøver*

Opbevaring af  $^{14}\text{C}$  mærkede algekulturer eller naturlige algepopulationer blev udført ved at inkubere algerne med  $^{14}\text{C}$  og derefter at sammenholde resultaterne fra prøver uden tilsætning af fikseringsmidler med resultater fra prøver fikseret med formalin (1% i den fikserede prøve) eller glutaraldehyd (1% i den fikserede prøve). De fikserede prøver blev opbevaret i køleskab i perioder op til 8 uger. Prøver uden tilsætning af formalin blev filtreret umiddelbart efter inkubation. Resultaterne fra ABM metoden blev sammenholdt med den partikulære produktion for 1)  $\times 0^{*3} \times$  daglig primærproduktion ( $\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ ), 2)  $G_{24\text{-max}}$  (maksimale produktionshastighed per volumen,  $\text{mg C m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ ), og 3) årlig produktion ( $\text{g C m}^{-2} \text{ år}^{-1}$ ).

## 3. Resultater

### 3.1. Toksicitet og spektralkarakteristik.

#### Toksicitet og spektralkarakteristik

Tilførsel af vandekstrakt fra vialslåg reducerede  $^{14}\text{C}$  optagelsen med 3.7-12.7%, når vandekstraktet svarede fra 0,9 til 4,5 vialslåg (tabel 1). Den beregnede EC10 værdi svarede til tilsætning af ekstrakt fra 4 vialslåg. Der var ingen signifikant reduktion i  $^{14}\text{C}$  optagelsen, når der blev tilsat vandekstrakt svarende fra 0,9 til 1,8 vialslåg. Transmissionen af lys fra 400 til 800 nm gennem 20 ml glas vials var næsten identisk med lys-transmissionen fra de normalt anvendte 25 ml glasflasker (tabel 2).

**Tabel 1.** Hæmning af  $^{14}\text{C}$ -optagelse af *Phaeodactylum tricornutum*. Kontrol repræsenterer resultater fra en prøve uden tilsætning af vand-ekstrakt. Prøverne »2« til »10« repræsenterer resultater fra prøver tilsat vandekstrakt svarende til 0,9, 1,8 og 4,5 vials låg. EC10 er den beregnede effekt-koncentration som giver en 10% reduktion i  $^{14}\text{C}$ -optagelsen i prøver inkuberet 2 timer med vand-ekstrakt relativt til  $^{14}\text{C}$ -optagelsen i kontrol flasker.

Prøve	Hæmning	N
Control	-	5
»2«	3.7	5
»4«	5.8	5
»8«	8.9	5
»10«	12.7	5
EC10	10.3 (8.0-13.9)	

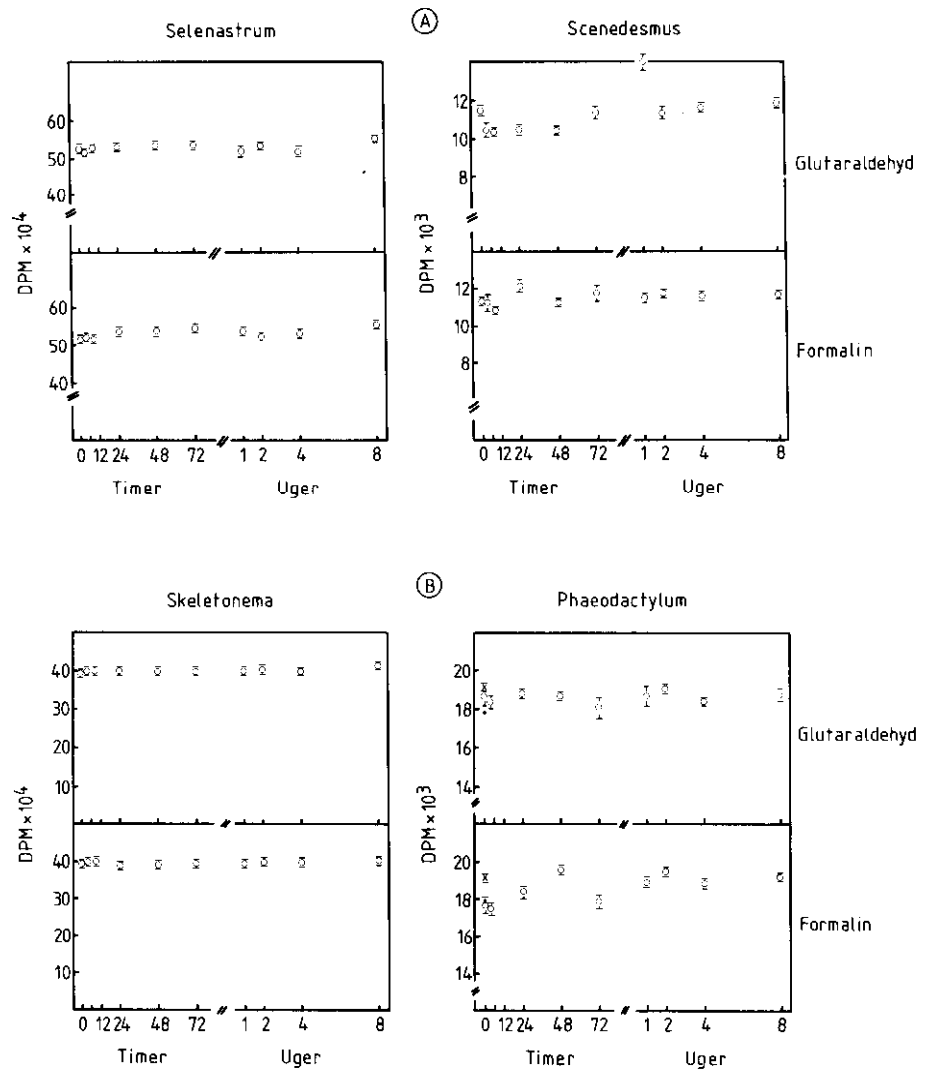
**Tabel 2.** Transmission af lys ved forskellige bølgelængder gennem Schott 25 ml Stejlbrust (Duran) flasker (1), Western Germany, og 20 ml glasvials fra Packard Instruments B.V.

Bølgelængde	Transmission <sup>1</sup>	Transmission <sup>2</sup>
300	75.5 +/- 10.0	42.5
400	89.5 +/- 3.1	91.4
450	87.7 +/- 5.7	91.6
500	93.6 +/- 6.2	91.8
550	93.3 +/- 3.4	91.9
600	89.5 +/- 2.3	91.9
650	89.9 +/- 2.0	91.9
700	89.1 +/- 3.2	92.0
750	88.4 +/- 3.1	92.0
800	91.4 +/- 3.3	92.0

### 3.2. Opbevaring af prøver.

#### Opbevaringsforsøg

Opbevaring af  $^{14}\text{C}$  mærkede grønalgler (fig. 3a) og marine kiselalger (fig. 3b) blev fulgt i op til 8 uger efter fiksering i formalin eller glutaraldehyd. Der var ingen signifikante ændringer (t-test,  $p < 0,05$ ) i kulstoffikseringen sammenholdt med resultater fra prøver uden tilsætning af fiksativer. Den største variation blev fundet ved tilsætning af formalin til *Scenedesmus* og *Phaeodactylum*.



*Figur 3.* Effekter af opbevaring af algekulturer fikseret med enten formalin eller glutaraldehyd i perioder op til 8 uger. Nultidsprøver repræsenterer radioaktivitet i prøver behandlet umiddelbart efter inkubation uden tilsætning af fiksativer. (A): 2 grønalger, (B): 2 kiselalger. Usikkerheder angiver standard afvigelse,  $n = 5$ .

### 3.3. Bobling af prøver.

#### *Fjernelse af uorganisk $^{14}C$ ved bobling*

Effektiviteten af bobleproceduren blev sammenholdt med effektiviteten af forsurede prøver, opbevaret åbne i op til 24 timer uden bobling. Der var ingen signifikante ( $t$ -test,  $p < 0,05$ ) forskelle mellem kulturer eller naturlige algepopulationer boblet i 30 min eller opbevaret åbne i 24 timer (*tabel 3*).

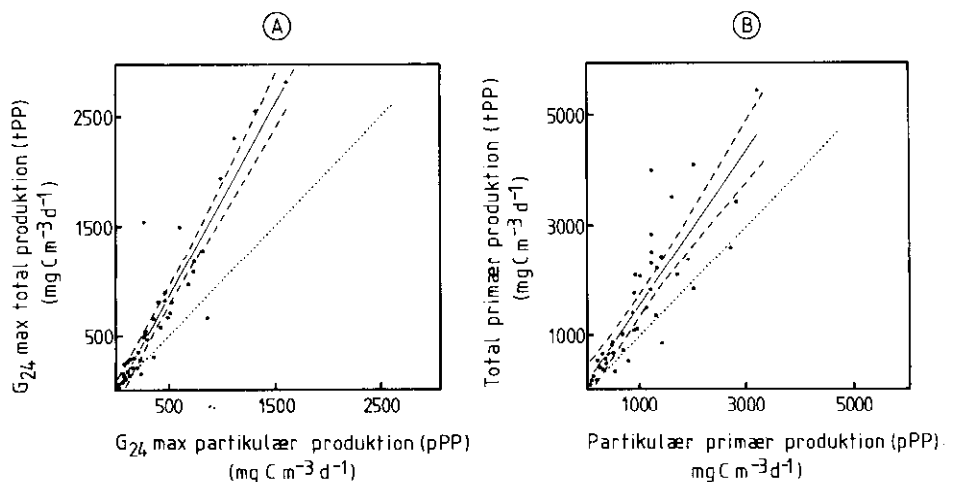
**Tabel 3.**  $^{14}\text{C}$ -aktivitet (DPM per 10 ml prøve) i kulturer og i naturlige algepopulationer bestemt ved ABM metoden og sammenholdt med resultater fra forsurede prøver opbevaret åbne i 24 timer uden bobling. Usikkerhederne angiver standard afvigelse,  $n = 5$ .

Kulturer	ABM-metoden	Opbevaret 24 timer
Scenedesmus acutus	2570 (84)	2505 (110)
Selenastrum capricornutum	4220 (48)	4312 (86)
Phaeodactylum tricornutum	1687 (28)	1680 (16)
Skeletonema costatum.	4022 (102)	4087 (74)
<i>Naturlige populationer</i>		
Rungsted Harbour, 6 Dec	132 (9)	137 (11)
- 8 Dec	90 (6)	77 (3)
- 8 Jan	66 (3)	59 (2)
- 12 Jan	123 (3)	124 (7)
- 6 Feb	168 (20)	184 (15)
- 22 Feb	239 (5)	262 (15)

### 3.4. Sammenligning mellem ABM og filtreringsmetoden.

*ABM- og filtreringsmetoden:  
Resultater fra Limfjorden*

Sammenligninger blev foretaget fra Limfjorden, Storebælt og Øresund. Resultaterne fra Limfjorden viste en lineær relation mellem  $G_{24\text{-max}}$  målt med ABM metoden og med filtreringsmetoden ( $r^2 = 0,86$ ). Bortset fra få undtagelser gav ABM metoden større værdier end filtreringsmetoden (fig. 4a). Gennemsnitligt gav ABM metoden 1,8 gange højere værdier. Der var ingen sæsonmæssige ændringer i disse forskelle mellem metoderne. Udtrykt per areal enhed gav ABM metoden 1,4 gange højere værdier end den partikulære produktion (fig. 4b).



**Figur 4.** Sammenhæng mellem resultater opnået med ABM metoden og ved filtreringsmetoden: (A):  $G_{24\text{-max}}$  ( $\text{mg C liter}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), (B):  $\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ . Regressioner: (A),  $tpp = 1,8 G_{24\text{-max}} (\text{pPP}) - 29,5$  og  $r^2 = 0,93$ . (B),  $tPP = 1,4 \text{ pPP} + 128$  og  $r^2 = 0,86$

Den årlige primærproduktion beregnet for de seks lokaliteter i Limfjorden var gennemsnitligt 57% (SD = 16, n = 6) højere med ABM metoden end med filtreringsmetoden (tabel 4). Præcisionen, defineret som reproducerbarheden af metoden målt ved gentagne observationer på den samme prøve, varierede for ABM metoden 0,1-8,3% med et gennemsnit på 1,8% (n = 1580). For filtreringsmetoden var den 6,1% for algekulturer og 12,6% for naturlige algepopulationer.

Lokalitet	ABM metode	Partikulær produktion	ABM (% of PP)
08	276	178	155
11	330	208	159
25	410	244	168
32	543	336	162
42	208	167	125
48	277	158	175
Mean	341	215	157

**Tabel 4.** Årlig primærproduktion (g C m<sup>-2</sup> fra 6 marine lokaliteter i Limfjorden bestemt ved ABM metoden og ved filtreringsmetoden (partikulær produktion).

08: Venø Bugt

32: Lovens Bredning

11: Kaas

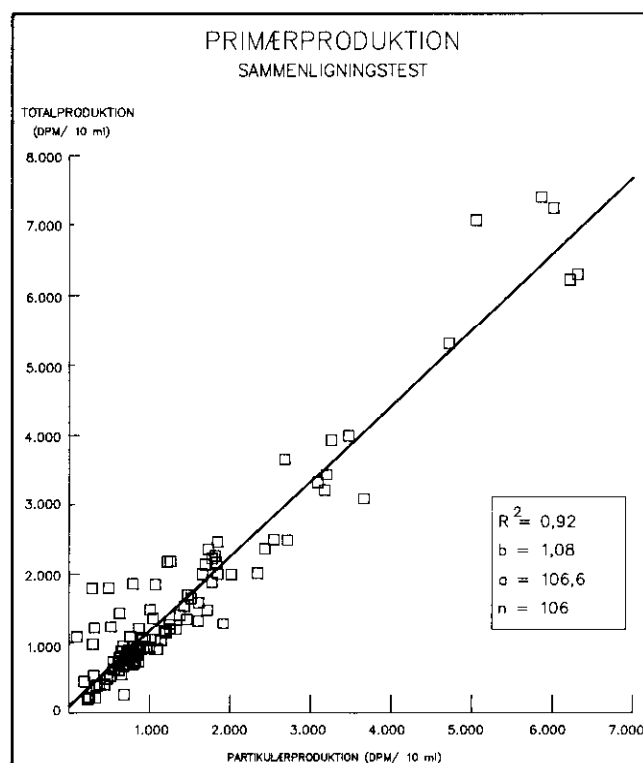
32: Aalborg

25: Bjørnsholm Bugt

48: Langerak

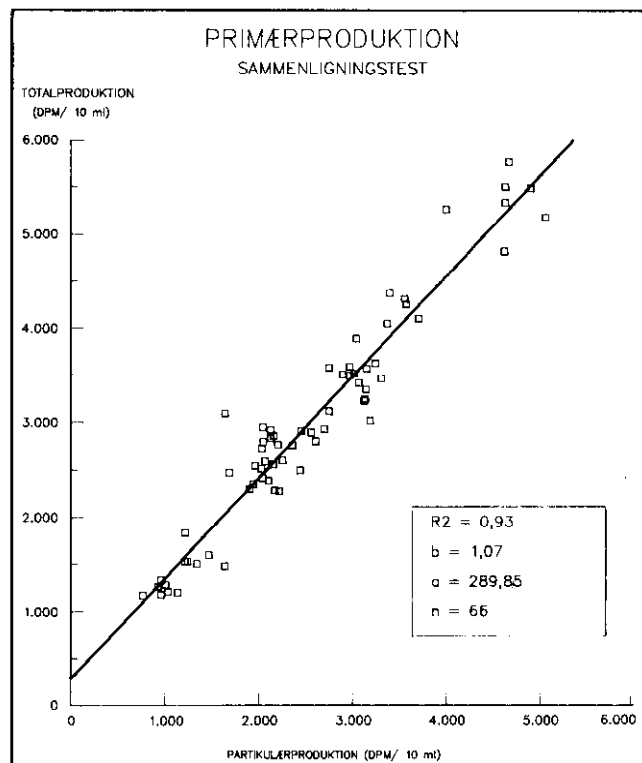
#### Data fra Storebælt

Resultaterne fra Storebælt omfattede 106 data sæt fordelt på sæsonen 1990. Som gennemsnit for materialet var resultaterne fra ABM metoden 1,1 gange større end filtreringsmetoden,  $r^2 = 0,92$  (fig. 5).



**Figur 5.** Sammenhæng mellem resultater opnået med ABM metoden og ved filtreringsmetoden fra Storebælt.

Fra lokaliteten i Øresund blev der gennemført 66 sammenligninger mellem de to metoder (fig. 6). Gennemsnitligt var resultaterne fra ABM metoden 1,1 gange større end resultaterne fra filtreringsmetoden,  $r^2 = 0,93$ .



Figur 6. Sammenhæng mellem resultater opnået ved ABM metoden og ved filtreringsmetoden fra Øresund.



## 4. Diskussion og konklusion

### *Toksicitet af låg til glasvials*

Anvendelse af glasvials i stedet for de ordinære 25 ml glasflasker til inkubation af algeprøver har den fordel, at vandet med algerne kan opbevares i den samme beholder fra starten af forsøget til den endelige tælling i scintillationsstæller. Spektralkarakteristikken af de anvendte glasvials var ikke forskellig fra de normalt anvendte glasflasker, men der var en 13,9% hæmning af kulstoffikseringen hos *Phaeodactylum* når vandekstrakt svarende til 4,5 vialslåg blev tilsat. Disse låg var ekstraheret i 24 timer, og i løbet af normale inkubationer er algerne eksponeret til 1 låg i oftest nogle få timer. En række senere tests (ikke præsenteret) viste, at der ikke var nogen målbar toksicitet i løbet af de første 8 timers eksponering til låg, hvilket yderligere peger på, at der i normal proceduren ikke skete hæmning af fotosyntesen hos *Phaeodactylum*.

### *Opbevaring af $^{14}\text{C}$ prøver*

Opbevaring af vandprøver efter inkubation med  $^{14}\text{C}$  er tidligere blevet undgået på grund af risiko for store tab af  $^{14}\text{C}$  fra de partikulære fraktioner (Silver & Davoll 1978). Når den totale stofproduktion ønskes målt, viste resultaterne fra vores test, at algekulturer og naturlige algepopulationer kunne opbevares efter fiksering i formalin eller bedre i glutaraldehyd i det mindste op til 8 uger uden tab af radioaktivitet.

### *Bobling versus opbevaring af åbne vials*

Resultaterne vedrørende fjernelse af uorganisk  $^{14}\text{C}$  fra prøverne ved forsuring og efterfølgende bobling viste, at det uorganiske  $^{14}\text{C}$  kunne fjernes i løbet af 30 min. Alternativt gav opbevaring af åbne forsuredede vials i 24 timer samme resultater. Der kan være flere fordele ved at lade glasvials stå i stinkskalet i stedet for at gennemboble dem: 1) gennemboblingen kan med et forkert udstyr blive forskellig i de boblede glasvials, og da den partikulære fraktion oftest udgør mindre end 1% af den samlede radioaktivitet, skal der ikke blive ret meget af det uorganiske  $^{14}\text{C}$  tilbage førend resultaterne for den organiske  $^{14}\text{C}$  fiksering bliver for høje, 2) opbevaring af de åbne vials kræver ingen udstyr bortset fra et stinkskalet, og 3) opbevaring af de åbne glasvials kræver ingen pasning. Der er flere grunde til at bruge ABM metoden i stedet for at anvende den partikulære filtreringsprocedure. Hvis kun den partikulære fraktion bestemmes, mistes en signifikant del af primærproduktionen. Endvidere sker der tab af radioaktivt materiale fra de partikulære fraktioner under filtreringsproceduren. Endelig er præcisionen af AMB metoden væsentligt bedre. Såfremt der ønskes en kvantificering af størrelsesfordelingen af den indbyggede radioaktivitet er det nødvendigt at gennemføre differentiell størrelsesfraktionering (Larsson & Hagström 1982; Jensen & Søndergaard 1985).

### *Fordele ved ABM-metoden*

### *Forsendelse af $^{14}\text{C}$ -mærkede vials*

Transport af formalin- eller glutaraldehyd-fikserede prøver til tællested kan foregå ved at sende vials som almindelig jernbanetransport mærket »RADIOAKTIV« på ydersiden og med fragtbrevet påtegnet RID A, klasse 7, blad 3. Den samlede mængde radioaktivitet i forsendelsen må ikke overstige 10 mCi, svarende til 5000 vials, hver tilsat  $2\mu\text{Ci}$ . Emballeringen skal være sådan, at der under normale transportomstændigheder ikke kan forekomme spild af radioaktive stoffer. Der henvises iøvrigt til »Cirkulære om transport af radioaktive stoffer« fra Sundhedsstyrelsen, 16. juni 1976.

### *ABM versus filtreringsmetoden*

Resultaterne opnået med ABM metoden gav lineære sammenhænge til resultaterne fra filtreringsproceduren. Forskellene mellem de to metoder var størst i dybder med maximal fotosyntese i materialet fra Limfjorden (fig. 4) sammenholdt med forskellene baseret på areal beregnede værdier. I materialet fra Storebælt og Øresund var den gennemsnitlige forskel ca 10%. Det er muligt, at algepopulationerne i Limfjorden generelt indeholder en større mængde flagellater, der ofte er mere følsomme for filtrering. På stationerne i Storebælt og i Øresund er der ofte dominans af store kiselalger. En nærmere

analyse af årsagerne til disse forskelle er dog ikke mulig. Den årlige primærproduktion fra seks stationer i Limfjorden var gennemsnitligt 57% større målt med ABM metoden.

Sammenfattende repræsenterer ABM en mere korrekt bestemmelse af den aktuelle produktion sammenholdt med resultater opnået fra differentiell filtreringsprocedurer, idet der ikke indgår filtrering i ABM metoden og at den opløste produktion indgår i resultaterne. Arbejdsindsatsen er mindre med ABM metoden, prøverne kan opbevares efter inkubation og præcisionen er bedre end med filtreringsproceduren. Resultater fra ABM metoden er højere end resultater fra den partikulære fraktion.

## 5. Referencer

### 5.1. Part 1

Referencer publiceret indenfor projektet.

- Christoffersen, K. & B. Riemann 1990. Alternativ metode til bestemmelse af planktonalgers primærproduktion. *Vand & Miljø*, 1: 12-14.
- Jensen, L.M. & B. Riemann 1990. En sammenligning mellem to metoder til bestemmelse af planktonalgers primærproduktion. *Vand & Miljø*, 8: 299 - 302.
- Riemann, B. & L.M. Jensen 1991. Measurement of phytoplankton primary production by means of the acidification and bubbling method. *Journal of Plankton Research*, in press.

### 5.2. Part 2

Referencer citeret i teksten.

- Derenbach, J.R. & Williams, P.J.LeB. 1974. Autotrophic and bacterial production. Fractionation of plankton populations by differential filtration of samples from the English Channel. *Mar. Biol.* 25: 263-269. DS 293.
1983. Planktonalgers kulstofassimilation i inkubator med <sup>14</sup>C-metoden. DS 293.
1983. Planktonalgers kulstofassimilation i inkubator med <sup>14</sup>C-metoden.
- Fogg, G.E. 1977. Excretion of organic matter by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 22: 576-577.
- Jensen, L.M. & Søndergaard, M. 1985. Comparison of two methods to measure algal release of dissolved organic carbon (EOC) and the subsequent uptake by bacteria. *J. Plank. Res.*, 7: 41-56.
- Larsson, U. & Hagström, Å. 1982. Fractionated phytoplankton primary production, exudate release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient. *Mar. Biol.*, 67: 57-70.
- Nalewajko, C. 1977. Extracellular release in freshwater algae as a source of carbon for heterotrophs, p. 589-624. In: Cairns, J. (Ed.), *Aquatic microbial communities*. Garland, New York.
- Peterson, B.J. 1980. Aquatic primary production and the <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub>-method: a history of the productivity problem. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11: 359-385.
- Schindler, D.W., Schmidt, R.V. & Reid, R.A. (1972). Acidification and bubbling as an alternative to filtration in determining
- Steemann-Nielsen, E. 1952. The use of radioactive carbon (<sup>14</sup>C) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.*, 18: 117-140.
- Søndergaard, M. & Jensen, L.M. 1986. Phytoplankton, p. 28-126. In: Riemann, B. & Søndergaard, M. (Eds.) *Carbon dynamics in eutrophic, temperate lakes*. Elsevier.

REGISTRERINGSBLAD

**Udgiver:** Miljøstyrelsen, Strandgade 29, 1401 København K

**Serietitel, nr.:** Havforskning fra Miljøstyrelsen, 5

**Udgivelsesår:** 1991

**Titel:**

Bestemmelse af phytoplanktonets totale stofproduktion

**Undertitel:**

**Forfatter(e):**

Riemann, Bo; Jensen, Lars Møller

**Udførende institution(er):**

Carbon 14 Centralen; Danske Hedeselskab

**Resumé:**

Standardiseringsarbejdet med måling af planktonalgers totale stofproduktion viste, at denne metode er mere korrekt end bestemmelser af kun den partikulære stofproduktion, idet der ved den sidste metode sker tab af radioaktivitet under inkubationen og under filtreringen. Metoden til bestemmelse af den totale stofproduktion gav bedre præcision og større resultater end den partikulære. Resultater opnået med de 2 metoder gav lineære sammenhænge fra 3 forskellige, marine lokaliteter.

**Emneord:**

kiselalger; grønalger; primærproduktion; biomasse; analysemetoder

**ISBN:** 87-503-9208-5

**ISSN:**

**Pris (inkl. moms):** 45 kr.

**Format:** A4

**Sideantal:** 20

**Md./år for redaktionens afslutning:** maj 1991

**Oplag:** 600

**Andre oplysninger:**

Rapport fra koordinationsgruppen for stofomsætningen i de frie vandmasser

**Tryk:** Scantryk, København

## Havforskning fra Miljøstyrelsen

### Rapporter fra Hav-90 forskningsprogrammet:

- Nr. 1: Analyse af ilt-sænkning i Kattegat, Bælthavet og V. Østersø
- Nr. 2: Danmarks vindklima fra 1870 til nutiden
- Nr. 3: Hydrografiske forhold i det sydlige Kattegat
- Nr. 4: Kystnær omfordeling af sediment og næringssalte
- Nr. 5: Bestemmelse af phytoplanktonets totale stofproduktion

# Bestemmelse af phytoplanktonets totale stofproduktion

Standardiseringsarbejdet med måling af planktonalgers totale stofproduktion viste, at denne metode er mere korrekt end bestemmelser af kun den partikulære stofproduktion, idet der ved den sidste metode sker tab af radioaktivitet under inkubationen og under filtreringen. Metoden til bestemmelse af den totale stofproduktion gav bedre præcision og større resultater end den partikulære. Resultater opnået med de 2 metoder gav lineære sammenhænge fra 3 forskellige, marine lokaliteter.



Pris kr. 45,- inkl. 22% moms

ISBN nr. 87-503-9208-5

Miljøministeriet **Miljøstyrelsen**

Strandgade 29 · 1401 København K · Tlf 31 57 83 10